

**PENGARUH TEPUNG KEDELAI (*GLYCINE MAX*)
TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN
Studi Eksperimental terhadap Tikus Galur Wistar
Jantan Yang Diinduksi Timbal Asetat**

SKRIPSI

untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

MUH NAJIB RIZA KHATAMI

30101900131

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2023

SKRIPSI

**PENGARUH TEPUNG KEDELAI (GYCLINE MAX L MERR)
TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN PADA TIKUS GALUR WISTAR
JANTAN YANG DIINDUKSI TIMBAL ASETAT**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Muh Najib Riza K

30101900131

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

pada tanggal 14 Agustus 2023

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



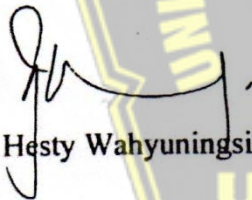
Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes

Anggota Tim Penguji



dr. Mohamad Riza, M.Si

Pembimbing II



dr. Hesty Wahyuningsih, M.Si.Med



dr. Widiana Rachim, M.Sc

Semarang, 21 Agustus 2023

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H, Sp.KF

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Muh Najib Riza K

NIM : 30101900131

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

“PENGARUH TEPUNG KEDELAI TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN

Studi Eksperimental Tikus Galur Wistar Jantan Yang Diinduksi Timbal

Asetat”

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar skripsi orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 22 Agustus 2023



Muh Najib Riza K

PRAKATA

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji selalu dipanjatkan kepada Allah Subhanahu wa Ta'ala atas karunia rahmat serta hidayah-Nya sehingga dapat terselesaikannya Skripsi dengan judul “Pengaruh Tepung Kedelai Terhadap Kadar Hemoglobin Pada Tikus Galur Wistar Jantan Yang Diinduksi Timbal Asetat”. Shalawat dan salam peneliti sampaikan pada Nabi Muhammad Shalallahu Alaihi Wassalam beserta para wali yang kita nantikan syafaatnya di hari akhir kelak, amiin.

Tujuan dari penyusunan Skripsi ini sebagai syarat untuk mendapatkan gelar sarjana Kedokteran dari Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H, Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang
2. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes. selaku dosen pembimbing I dan dr. Hesty Wahyuningsih, M.Si.Med. selaku dosen pembimbing II yang telah sabar memberikan pengarahan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi.
3. dr. Mohamad Riza, M.Si. dan dr. Widiana Rachim, M.Sc. sebagai penguji skripsi yang telah memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan Skripsi ini.
4. Orangtua (warji dan johar nuraini), dan keluarga yang telah memberikan dukungan dan do'a bagi penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi.

5. Nining Alkomah yang membantu peneliti dalam penyelesaian Skripsi
6. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terima kasih atas bantuan dalam penyelesaian Skripsi ini.

Peneliti mengetahui bahwa skripsi ini belum sempurna. Karena itu peneliti berterima kasih sekali atas kritis dan saran yang membangun. Peneliti berharap penelitian ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di semua disiplin ilmu serta bermanfaat bagi pembaca.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh



Semarang, 21 Agustus 2023

Muh Najib Riza K

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan penelitian	3
1.3.1. Tujuan umum.....	3
1.3.2. Tujuan Khusus	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2. Manfaat Praktis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Hemoglobin	5
2.1.1. Pengertian Hemoglobiin	5
2.1.2. Faktor Yang Mempengaruhi Hemoglobin.....	5
2.1.3. Struktur Hemoglobin	8
2.1.4. Fungsi Hemoglobin.....	9
2.1.5. Kadar Hemoglobin.....	10
2.1.6. Proses Pembentukan Hemoglobin.....	11
2.1.7. Anemia.....	12
2.1.8. Patofisiologi Anemia	13
2.1.9. Timbal.....	14
2.1.10. Metabolisme Timbal Dalam Tubuh.....	15
2.1.11. Kadar Timbal	16

2.1.12. Stress Oksidatif	16
2.1.13. Vitamin E.....	17
2.1.14. Hubungan Timbal dengan Anemia	19
2.2. Kacang Kedelai.....	19
2.2.1. Kacang Kedelai.....	19
2.2.2. Komposisi Kacang Kedelai	20
2.2.3. Toksonomi Kedelai.....	20
2.2.4. Manfaat Dan Nilai Gizi Kedelai	21
2.2.5. Hubungan Kacang Kedelai terhadap Kadar Hemoglobin.....	22
2.3. Kerangka teori	24
2.4. Kerangka konsep	24
2.5. Hipotesis	24
BAB III METODE PENELITIAN.....	27
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan.....	27
3.2. Variabel dan Definisi Operasional	27
3.2.1. Variabel.....	27
3.2.2. Definisi Operasional	27
3.3. Populasi dan Sampel.....	28
3.3.1. Populasi Penelitian.....	28
3.3.2. Sampel Penelitian	28
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	29
3.4.1. Instrumen Penelitian Alat yang Digunakan :.....	29
3.4.2. Bahan Penelitian	30
3.5. Cara Penelitian.....	30
3.5.1. Penentmuan Awal	30
3.5.2. Penentuan Dosis Pb Asetat	30
3.5.3. Penentuan Dosis Vitamin E	31
3.5.4. Prosedur Penelitian	31
3.5.5. Kelompok Penelitian.....	32
3.6. Tempat dan Waktu.....	33
3.6.1. Tempat Penelitian	33

3.6.2. Waktu penelitian.....	33
3.7. Analisis Hasil.....	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1. Hasil Penelitian.....	34
4.1.1. Hasil Pengukuran Kadar Hb	35
4.1.2. Hasil Analisis Pengukuran Kadar Hb	36
4.2. Pembahasan	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
5.1. Kesimpulan.....	42
5.2. Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	46



DAFTAR SINGKATAN

ALAD	: <i>aminolevilini acid</i>
ALA	: <i>amino leavulicic acid</i>
BLL	: <i>blood lead level</i>
COHb	: <i>karboksilhemoglobin</i>
GPX	: <i>glutathione peroxidase</i>
Hb	: <i>Hemoglobin</i>
HbA	: <i>hemoglobin A</i>
HbO2	: <i>Oksihemoglobin</i>
PSPG-PAU	: <i>Pusat studi pangan dan gizi pusat antar universitas</i>
PUFA	: <i>polysaturated fatty acid</i>
ROS	: <i>reactive oxygene species</i>
SOD	: <i>superoxide dismutase</i>
WHO	: <i>world health organization</i>



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. tepung kedelai	21
Gambar 2.2. Kerangka teori.....	15
Gambar 2.3. Kerangka Konsep.....	24
Gambar 4.1. Rerata kadar Hb antar Kelompok (K1: kelompok tikus jantan tanpa paparan timbal, K2: kelompok tikus jantan terpapar timbal, K3: kelompok tikus jantan terpapar timbal yang diberi vitamin E dengan dosis 1,8 IU/200grBB, K4: kelompok tikus jantan terpapar timbal yang diberi tepung kedelai 0,45 g/200grBB).	37



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Hasil Pengukuran Kadar Hb.....	35
Tabel 4.2. Rerata kadar Hb, hasil uji normalitas, homogenitas dan One Way Anova	36
Tabel 4.3. Hasil analisis rerata kadar Hb dengan uji Post hoc LSD.....	38



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Deskripsi data pengukuran tepung kedelai terhadap kadar Hb yang diinduksi Pb asetat antar kelompok	46
Lampiran 2. Hasil analisis normalitas distribusi data dan homogenitas varian data kadar Hb dengan uji Shapiro-Wilk dan lavene Test	48
Lampiran 3. Hasil analisis deskriptif dan signifikansi perbedaan rerata kadar MDA dengan uji <i>One Way Anova</i> dan <i>Post Hoc LSD</i>	49
Lampiran 4. Proses Penelitian	50
Lampiran 5. Ethical Clearance	52
Lampiran 6. Surat Keterangan Bebas Peminjaman Laboratorium.....	53
Lampiran 7. Surat Keterangan Selesai Penelitian	54



INTISARI

Timbal, juga disebut timah hitam adalah logam padat berwarna abu-abu mengkilat dengan nomor atom 82 dan merupakan logam berat yang mempunyai efek sebagai sumber radikal bebas dapat menyebabkan anemia dan berbahaya untuk tubuh. Pb pada sumsum tulang bersifat inhibitor dalam reaksi enzimatik dengan menghambat enzim ALAD dan *ferrokhelatase* yang berperan dalam sintesis hemoglobin. Tingginya kadar Pb dalam darah dapat menghambat proses pembentukan hemoglobin. Kedelai merupakan sumber pangan fungsional yang memiliki kandungan isoflavon sebagai antioksidan. Antioksidan dapat menangkalkan radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian tepung kedelai terhadap kadar Hb pada tikus putih galur wistar jantan yang diinduksi Pb asetat.

Jenis penelitian eksperimental ini menggunakan *post-test only control group design*. Subjek penelitian adalah 24 ekor tikus jantan yang dibagi 4 kelompok perlakuan selama 14 hari, yaitu: Kelompok I (K1) kontrol positif; Kelompok II (K2) tikus diberikan 500 mg Pb asetat oral; Kelompok III (K3) tikus diberikan 500 mg Pb asetat oral dan 1,8 IU Vitamin E; Kelompok IV (K4) tikus diberikan 500 mg Pb asetat oral dan 0,45 gram tepung kedelai. Kadar Hb setelah perlakuan dihitung menggunakan spektrofotometer dengan metode *thiobarbituric-reactive substance* (TBARS). Perbedaan antar kelompok dianalisis dengan uji *One Way Anova* dilanjutkan dengan *Post Hoc LSD*.

Rerata kadar Hb pada K1 = $16,78 \pm 0,55$ gram/dL; K2 = $9,29 \pm 0,18$ gram/dL; K3 = $15,11 \pm 0,26$ gram/dL; K4 = $15,66 \pm 0,36$ gram/dL. Uji *One Way Anova* didapatkan perbedaan antar kelompok signifikan ($p = 0,000$; $p < 0,05$). *Post Hoc LSD* didapatkan perbedaan antar masing-masing kelompok signifikan ($p < 0,05$).

Pemberian tepung kedelai berpengaruh terhadap kadar Hb tikus jantan yang diinduksi timbal asetat.

Kata kunci: Tepung kedelai, timbal, *hemoglobin*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Timbal adalah golongan Logam berat dan golongan IV A unsur fase 6 tabel periodik. Nilai normal timbal 10-25 ul/dL (Ardillah, 2016), apabila timbal melebihi batas normal, maka akan menyebabkan kerusakan. Bahan bakar yang masuk ke tubuh sekitar 95% yang bisa menyebabkan muntah, pusing, kadar Hb terganggu dan pernapasan serta gangguan kesehatan lainnya yang mengakibatkan penurunan tingkat fisik. dan reaktivitas mental menurun. (Pramayoga Sinatra, Farizah Fahmi and Amir, 2020).

Efek paparan timbal secara kronis menyebabkan hemoglobin menurun. Penurunan hemoglobin secara terus menerus dapat mengakibatkan anemia. Kadar timbal yang tinggi di darah dapat mengganggu proses erythropoiesis akibatnya menghalangi proses protoporphyrin, menghalangi zat besi yang nantinya meningkatkan terjadinya anemia. (Pramayoga Sinatra, Farizah Fahmi and Amir, 2020).

Pemberian tablet Fe dan susu kedelai dapat meningkatkan kadar hemoglobin ibu hamil anemia, karena kandungan zat besi yang terkandung di dalamnya. Zat gizi yang dibutuhkan untuk pembentukan hemoglobin yaitu zat besi, vitamin C dan asam folat dalam jumlah yang cukup. Asam folat membentuk sel-sel darah merah, zat besi untuk pematangan eritrosit atau sel darah merah, vitamin C dapat meningkatkan absorbs dan metabolisme zat besi, dan

protein mengandung globin yang nantinya akan berikatan dengan heme menjadi hemoglobin (Yuni, Sita Faiftina, 2019).

Menurut data Riskesdas (2018) rata-rata yang menderita kekurangan darah sebesar 48,9%. Berdasarkan kelompok umur, 84,6%, umur 15-24 tahun, 33,7%, umur 25-34 tahun, 33,6%, umur 35-44 tahun, dan 48,9% ibu hamil.

Anemia disebabkan karena tingginya timbal di darah yang dapat menghambat dari proses pembentukan Hb, yang menghalangi proses dari eritrosit (*erythropoiesis*) serta menghalangi proses *protoporphyrin*, lalu juga mengganggu penyerapan zat besi, yang nantinya penyerapan zat besi bertambah dan dapat menyebabkan anemia. (Pramayoga Sinatra, Farizah Fahmi and Amir, 2020).

Kadar timbal yang tinggi di dalam darah menghalangi dari proses pembentukan hemoglobin. Kedelai terdapat protein yang bagus mempunyai 40% protein. Protein dalam kedelai membentuk globin, yang kemudian bergabung dengan heme untuk membentuk hemoglobin, meningkatkan hemoglobin dalam tubuh (Riskiawati, 2012).

Kedelai sering diolah menjadi tempe dan susu kedelai adalah makanan fungsional yang mengandung banyak protein, lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, zat besi, provitamin A, vitamin B kompleks (kecuali B12), dan air, di dalam kedelai terdapat protein yang bisa meningkatkan kadar hemoglobin. Dosis 0,45 gram kedelai setiap hari bisa mencukupi kebutuhan zat besi.

Kedelai mengandung zat besi yang membantu meningkatkan fungsi sel-sel darah merah. (Rizki *et al.*, 2020).

Berdasarkan uraian diatas, diperlukan penelitian tentang pemberian tepung kedelai terhadap kadar hemoglobin. Penelitiannya dilaksanakan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PAU) Universitas Gadjah Mada di Yogyakarta, karena anatomi tubuh tikus mirip dengan manusia, tikus putih galur wistar jantan digunakan dan diberi tepung kedelai.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah pemberian tepung kedelai ke tikus galur wistar yang diinduksi timbal asetat mempengaruhi kadar hemoglobin ?

1.3. Tujuan penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Mengetahui pengaruh pemberian tepung kedelai terhadap kadar hemoglobin pada tikus yang diinduksi Pb asetat.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Mengetahui rata-rata kadar Hb kelompok tikus galur wistar jantan yang diberi pakan standar.

1.3.2.2. Mengetahui rata-rata kadar Hb kelompok tikus galur wistar jantan yang diberi pakan standart + Pb asetat 500 mg.

- 1.3.2.3. Mengetahui rata-rata kadar Hb kelompok tikus galur wistar jantan yang diberi pakan standar + Pb asetat 500 mg + Vitamin E 1,8 IU
- 1.3.2.4. Mengetahui rata-rata kadar Hb kelompok tikus galur wistar jantan yang diberi pakan standar + Pb asetat 500 mg + tepung kedelai 0,45 g.
- 1.3.2.5. Mengetahui perbedaan rata-rata kadar Hb pada tikus galur wistar jantan yang terpapar Pb antar kelompok perlakuan.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk mempelajari efek tepung kedelai pada kadar Hb pada tikus putih galur wistar jantan yang diinduksi Pb asetat.

1.4.2. Manfaat Praktis

Untuk memberikan informasi kepada masyarakat tentang penggunaan kacang kedelai sebagai alternatif untuk mengatasi stress oksidatif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Hemoglobin

2.1.1. Pengertian Hemoglobiin

Hemoglobin (Hb) ialah protein sel darah tetrametrik, bisa menangkap molekul tidak protein, ialah senyawa porfirin besi yaitu heme dan membawa oksigen menuju jaringan serta karbondioksida lalu proton ke organ respirasi melalui jaringan perifer. (Gunadi, Mewo, dan Tiho, 2016).

2.1.2. Faktor Yang Mempengaruhi Hemoglobin

a. Kondisi Geografi

Tubuh memproduksi sel darah merah secara normal, seseorang saat di pesisir kadar hemoglobinnya menurun dari yang menempati di dataran rendah dan mereka lebih aktif dalam meningkatkan suhu tubuh dan mengikat kadar oksigen.

b. Nutrisi

Mengonsumsi makanan yang mempunyai banyak zat besi, jumlah eritrosit menjadi banyak, pada gilirannya menyebabkan peningkatan hemoglobin dalam darah.

c. Faktor Kesehatan

Kadar hemoglobin dalam darah sangat dipengaruhi oleh kesehatan seseorang, jika mereka sehat, kadar hemoglobin akan

selalu berada pada tingkat normal. Jika kadar hemoglobin rendah, itu dapat menyebabkan penyakit jangka panjang seperti gagal ginjal, sirosis, dan hipotiroidisme.

d. Faktor Genetik

Anemia adalah faktor risiko yang lebih besar untuk gangguan tumbuh kembang janin dan komplikasi persalinan pada wanita yang menderita penyakit genetik jangka panjang.

(Jannah *et al.*, 2021)

e. Usia

Kadar hemoglobin yang tinggi itu pada saat masih balita dari masa anak-anak dan orang dewasa. Kadar hemoglobin turun seiring bertambahnya umur. Kadar hemoglobin muali turun dari usia lima puluh tahunan, tetapi pada beberapa kondisi, kadar hemoglobin menurun secara signifikan saat masa anak-anak disebabkan oleh konsumsi zat besi yang lebih besar untuk perkembangannya, dengan bertambahnya umur, perubahan degeneratif fungsi tubuh akan meningkat yang membuat susah untuk mentoleransi polutan.

f. Jenis kelamin

Pria mempunyai kadar hemoglobin yang tinggi daripada perempuan dalam keadaan normal, untuk dari fisiologisnya serta metabolisme pria sangat baik dibanding wanita. Selain itu, kadar Hb wanita cepat berkurang, sebab mereka memiliki siklus haid

setiap bulan. Perempuan lebih membutuhkan zat besi daripada laki-laki karena menstruasi menyebabkan kehilangan zat besi yang lebih besar.

g. Kebiasaan merokok

(Rizkiawati, 2012) menyatakan bahwa merokok bisa menjadikan kerusakan sel silia di jalan napas, karena sel silia berfungsi untuk menyaring bahan yang ada di tubuh. Merokok bisa mengganggu proses itu dan nantinya udara jadi tersumbat, alveoli terganggu dan ruang dari paru-paru terganggu juga. Selain itu, merokok bisa menginfeksi sel mukus, yang dapat meningkatkan mukus dan dapat menimbulkan infeksi dan rusaknya paru-paru. Akibatnya, zat kimia dari rokok contohnya logam berat akan mudah menyerang organ kita, karena kerusakan paru-paru menyebabkan kadar hemoglobin di darah turun. Logam berat itu sendiri nantinya menghalangi proses hemoglobin, seperti timbal, boron, kadmium, selenium, arsenik dan antimoni. Rokok terdapat kandungan yang berbahaya, seperti nikotin, nitrogen oksida, karbonmonoksida, hidrogen sianida dan radikal bebas. Karbonmonoksida 245 kali lebih mudah berikatan dengan hemoglobin dibandingkan oksigen dengan hemoglobin. Karbonmonoksida yang berikatan dengan hemoglobin membentuk *karboksilhemoglobin* (COHb) yang dalam keadaan normal jumlahnya di dalam darah sangat rendah.

Kadar *karboksilhemoglobin* yang tinggi pada perokok menyebabkan rendahnya penyerapan oksigen oleh tubuh, oleh karena itu tubuh merespon keadaan ini dengan meningkatkan kadar hemoglobin.

2.1.3. Struktur Hemoglobin

Hemoglobin yaitu metalo protein yang mengangkut O₂ mulai paru-paru menuju jaringan ke semua bagian organ dan membawa karbondioksida mulai jaringan ke paru-paru, yang kemudian dibawa kembali menuju paru-paru dan dilepaskan ke udara bebas. Globin, apoprotein, dan empat gugus heme membentuk hemoglobin. Anemia sel sabit dan talasemia adalah contoh penyakit *hemoglobinopati*, di karenakan dari mutasi pada gen protein hemoglobin (Hasanan F, 2018). Hemoglobin mempunyai empat rantai protein yang terhubung, yaitu 2 alfa-globulin dan 2 beta-globulin, hemoglobin A (HbA), adalah hemoglobin normal orang dewasa (Estridge, 2012)

Cincin heterosiklik yang disebut porfirin berada di pusat molekul hemoglobin dan mempertahankan satu atom besi, yang disebut ikatan oksigen. Heme adalah porfirin yang mengandung zat besi. Ada satu heme untuk setiap subunit hemoglobin, sehingga hemoglobin mempunyai 4 molekul O₂. Molekul itulah yang melekat pada besi lalu mengangkut karbon dioksida dan oksigen melalui darah. Gugus heme yang memberi warna merah pada darah. Komponen anorganik dan atom besi pusat terdiri dari gugus heme.

Senyawa organik yang dikenal sebagai *protoporphyrin* mempunyai 4 cincin pirol, yang nantinya terbentuk cincin tetrapiol. Cincin terdiri dari 4 kelompok mitral dan vinil dengan 2 rantai samping propanol. Struktur Hb memiliki 4 rantai polipeptida dan 4 gugus heme, dari gugus itu memiliki 574 asam amino. Rantai polipeptida memiliki 2 rantai alfa dan 2 rantai beta, selanjutnya rantainya saling berikatan sama satu kelompok heme.

Ikatan alfa berisi 141 asam amino serta dalam ikatan beta berisi 146 asam amino. Di dalam molekul adalah cincin heterosiklik biasa disebut porfirin. Porfirin terdiri dari 4 cincin pirol lalu dibuat penghubung buat menjadikan cincin tetrapiol. Dalam cincin, ada 4 kelompok mitral serta satu rantai samping *vinil* dan dua propanol. Porfirin ada kandungan 1 atom besi yaitu heme. Fe dapat menempel di molekul heme ini dan mengangkut O₂ dan CO₂ melalui darah (Maretdiyani, 2013).

2.1.4. Fungsi Hemoglobin

a) Mengontrol pertukaran oksigen dan karbondioksida. Hb merupakan molekul alosterik, tersusun 4 polipeptida yang berfungsi mengangkut oksigen dan karbon dioksida. Saat setiap molekul berikatan, hemoglobin cenderung meningkatkan oksigen, yang menyebabkan pergeseran kurva disosiasi, dan menyebabkan Hb tidak mau dengan oksigen di paru-paru dan melepaskan oksigen ke jaringan secara lebih efisien.

- b) O₂ diambil melalui paru-paru dan didistribusikan ke semua tubuh lalu di jadikan energi, karena sifatnya yang kaya zat besi, hemoglobin, protein kaya zat besi, mampu membentuk *oksihemoglobin* (HbO₂), yang membawa O₂ mulai paru-paru menuju jaringan.
- c) Karbondioksida yang diproduksi dimulai di jaringan lalu menuju ke paru-paru agar dibuang, untuk membawa oksigen ke dalam darah, porfirin besi terikat pada protein globin, karena hemoglobin bertanggung jawab untuk menjaga agar eritrosit bikonkaf, jika bentuk sel darah merah terganggu, kemampuan eritrosit untuk melalui kapiler akan berkurang (Maretdiyani, 2013).

2.1.5. Kadar Hemoglobin

Kadar zat warna respiratorik di eritrosit disebut kadar Hb. WHO sudah memutuskan nilai normal kadar Hb dari usia serta jenis kelamin. Kadar Hb normal ialah sekitar lima belas gram per 100 mililiter darah. Di uji laboratorium klinis terdapat alat ukur kadar hemoglobin dalam darah. Ini dipakai buat mengamati, kemampuan darah untuk membawa oksigen ke semua sel tubuh. Seseorang dapat mengetahui apakah mereka menderita kurang darah mereka, anemia adalah kondisi di mana kadar Hb turun, bisa terlihat seperti capek, asma, pucat, dan sakit kepala. Akibatnya, badan menderita hipoksia

karena kesanggupan tubuh untuk membawa oksigen dari darah menjadi sedikit (Hasanan F, 2018).

2.1.6. Proses Pembentukan Hemoglobin

Sebagian besar hemoglobin disintesis dalam mitokondria melalui berbagai reaksi biokimia pada stadium eritroblast sebanyak 65% dan retikuklosit 35%. Pertama, enzim *amino laevulinic acid* (ALA) mengondensasi glisin dan suksinil koenzim A. Distimulasi oleh *eritropoetin* dan dihalangi oleh hem, vitamin B6 berfungsi sebagai koenzim dalam reaksi ini. Untuk membentuk hem, *protoporphyrin* bergabung dengan besi, di mana masing-masing molekul *protoporphyrin* bergabung dengan rantai globin. Menurut (Rumiyati. E, 2006), molekul hemoglobin dibentuk oleh tetramer dengan masing-masing gugus hemnya sendiri. Proses penciptaan heme diawali mitokondria dengan aktivitas *glycine* dan *succinyl-CoA* yang membuat sintesis *aminolevulinic acid* (ALAD). Enzim ALAD lalu menuju sitosol untuk membuat *porphobilinogen* dan yaitu prazat pertama pirol, dengan enzim ALAD *dehydratase* sebagai perantara. Inhibisi timbal sangat sensitif terhadap dehidratase ALAD (Adiwijayanti, 2015). Empat *porphobilinogen* membuat tetrapirrol linier, yang terdiri dari hidroksil metil bilana, lalu dikatalisis oleh enzim PBG deaminase dan membuat *uroporphirinogen I* simetris maupun *uroporphirinogen III* asimetris, yang menginginkan enzim lagi, yang disebut kosintase. Saat keadaan biasa, *uroporphirinogen III*

ingin dibuat oleh enzim ini. Enzim *uroporphirinogen* dekarboksilase kemudian dekarboksilasi *Uroporphirinogen* III dan menghasilkan *Corproorphirin* (Adiwijayanti, 2015). Setelah menuju di mitokondria, *corproorphirin* menghadapi proses oksidasi serta dekarboksilasi. Reaksinya dikatalisis sama *Corproorphirin* oksidase, yang menghasilkan *protoporphyrinogen*. Selanjutnya, *protoporphyrinogen* menyatu dengan Fe^{++} dalam reaksi yang dikatalisis oleh *ferrochelataase* membentuk heme. Hasilnya adalah hemoglobin (Adiwijayanti, 2015).

2.1.7. Anemia

Anemia adalah kondisi berkurangnya sel darah merah atau yang biasa disebut dengan eritrosit dalam sirkulasi darah atau hemoglobin sehingga tidak mampu memenuhi fungsinya sebagai pembawa oksigen ke seluruh jaringan (Astuti, 2018). Semua orang yang menderita anemia memiliki gejala umum, yaitu kekurangan kadar Hb, yang dikategorikan berdasarkan tubuh yang mengalami gangguan, menurut (Handayani, W dan Haribowo, 2008) yaitu :

- a) Sistem kardiovaskuler: kelelahan, mudah capek, detak jantung cepat, irama jantung cepat, asma saat beraktivitas, dan gagal jantung.
- b) Sistem saraf: pusing, telinga mendenging, mata berkunang, kelemahan otot, iritabilitas, kelelahan, dan perasaan dingin saat suhu tinggi.

- c) Sistem urogenital: penurunan menstruasi dan seksualitas.
- d) Epitel: pucat pada kulit dan mukosa, penurunan kelenturan kulit, dan rambut tipis dan halus.

2.1.8. Patofisiologi Anemia

Timbulnya anemia mencerminkan adanya kegagalan sumsum tulang atau kehilangan sel darah merah secara berlebihan. Kegagalan sumsum tulang dapat terjadi akibat kekurangan nutrisi, invasi tumor atau kebanyakan akibat penyebab yang tidak diketahui. Sel darah merah dapat hilang melalui pendarahan destruksi, dapat mengakibatkan defek sel merah yang tidak sesuai dengan ketahanan sel darah merah yang menyebabkan destruksi sel darah merah. Pecah atau rusaknya sel darah merah terjadi terutama dalam hati dan limpa. Peningkatan bilirubin plasma menunjukkan kerusakan eritrosit, bisa jadi terjadinya hancurnya dinding sel darah merah. Konsentrasi normal bilirubin adalah sekitar 1 mg/dl, tetapi di atas 1,5 mg/dl menyebabkan ikterik pada sklera, jika eritrosit rusak di peredaran (dalam kelainan hemolitik), Hb muncul di plasma *hemoglobinemia*, jika kadar plasmanya melewati daya tampung *haptoglobin* plasma (protein penarik hemoglobin yang terbuka dari eritrosit yang sudah hancur) buat mengikatnya secara keseluruhan, Hb bakal berpecah dalam *glomerulus* ginjal dan kemudian masuk ke dalam urin, yang dikenal sebagai *hemoglobinuria* (Wijaya, A.S dan Putri, 2013).

2.1.9. Timbal

Menurut NIOSH (2013) dalam Jurnal Humairo dan Keman (2017) timbal dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui 3 jalur yaitu inhalasi, ingesti, dan absorpsi melalui kulit. Timbal yang masuk ke tubuh manusia sebagian besar yaitu hampir 80% melalui inhalasi dan hanya sekitar 10–15% melalui ingesti pada orang dewasa. Paparan timbal dalam tinta percetakan secara terus-menerus dapat menyebabkan gangguan kesehatan diantaranya gangguan sistem hematopoietik seperti gangguan pada saat pembentukan hemoglobin. Menurut Center of Control Disease dalam jurnal Humairo dan Keman (2017) apabila kadar timbal dalam darah $> 10 \mu\text{g}/\text{dL}$ dapat menimbulkan gangguan kesehatan seperti penurunan fungsi neurokognitif, abnormalitas sperma, disfungsi ginjal, gangguan pencernaan, dan timbulnya gangguan pada sistem hematopoietik.

Rumus kimia logam berat timah hitam atau timbal (Pb), berada di golongan IV A di periode 6 dalam sistem periodik unsur. Timbal, juga disebut timah hitam adalah logam padat berwarna abu-abu mengkilat dengan nomor atom 82 dan merupakan logam berat yang mempunyai efek berbahaya untuk tubuh. Jumlah timbal telah meningkat di lingkungan selama tiga abad terakhir karena aktivitas manusia. Timbal, logam berat beracun, memengaruhi ginjal, sistem hematopoietik.

Konsumsi makanan, air, tanah, dan debu dapat menyebabkan paparan timbal, timbal terkumpul di badan serta ditahan di tulang. Timbal adalah serbuk berwarna abu-abu gelap yang digunakan dalam berbagai proses, seperti dalam pembuatan amunisi dan baterai, pelindung radiasi, komponen cat, pembungkus kabel, gelas keramik, perangkat elektronik, pipa, dan kontrainer (Ardillah, 2016).

2.1.10. Metabolisme Timbal Dalam Tubuh

Timbal dapat memasuki di jalan napas, pencernaan dan dermal. Di jalan napas mengabsorpsi timbal dengan tingkat 40%, sedangkan saluran pencernaan hanya mengabsorpsi 5-10%, lalu di plasma darah ada sebagian. Sebagian besar timbal terikat di jaringan lunak serta tulang. Pengeluaran melewati saluran pencernaan dan ginjal. Timbal diserap dibawa darah menuju tubuh. Sembilan puluh persen timbal diikat oleh eritrosit dalam darah, sembilan puluh persen terikat tulang dan lainnya disimpan di jaringan lunak (hati, ginjal, dan saraf) (Lubis, 2013). Masing-masing 1 molekul hemoglobin mengikat 4 molekul O₂ atau 8 atom oksigen. Karena Pb 90% tersimpan di tulang maka dengan adanya Pb pada sumsum tulang akan bersifat inhibitor dalam reaksi enzimatik dengan menghambat enzim ALAD dan *ferrokkelatase* yang berperan dalam sintesis hemoglobin. Tingginya kadar Pb dalam darah dapat menghambat proses pembentukan hemoglobin. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Rizkiawati, 2012), yang

menunjukkan bahwa adanya hubungan antara Pb darah dengan kadar hemoglobin darah.

2.1.11. Kadar Timbal

Semua organ dan sistem terpengaruh oleh timbal, yaitu sistem kardiovaskuler, sistem motorik, dan sistem endokrin. Anoreksia, nyeri perut, muntah, dan konstipasi adalah gejala keracunan timbal pada sistem *gastrointestinal* yang muncul dan berulang selama beberapa minggu. Anak-anak dengan kadar garam darah (BLL) lebih dari 20 $\mu\text{g/dL}$ di dapati masalah *gastrointestinal* dan disfungsi tubular ginjal. Peningkatan tekanan intrakranial dan edema serebral adalah penyebab gejala susunan saraf pusat. Sakit kepala, sikap berubah, badan lemah, edema papil, kejang, dan pingsan, susah didapati pada kadar timbal $>100 \mu\text{g/dL}$, namun pada BLL 100 $\mu\text{g/dL}$ sudah pernah ada (CDC). (2011)

2.1.12. Stress Oksidatif

Tidak seimbangnya *prooksidan* dan antioksidan bisa mengakibatkan *stress oksidatif*. Radikal bebas seperti superoksida, radikal hidroksil, alkoxyl, dan proxyl serta non-radikal seperti hidrogen peroksida dan hipoklorida dapat menyebabkan stress oksidatif di dalam eritrosit. Atom yang tidak berpasangan dengan orbital luarnya disebut sebagai radikal bebas, namun, mereka cepat bereaksi untuk dapat di ruang di orbital 11 yang tidak berpasangan. Tubuh biasanya menghasilkan ROS melalui metabolisme oksidatif,

tetapi tubuh memiliki sistem pertahanan antioksidan yang mencegah kerusakan. Antioksidan termasuk katalase, *glutathione reductase*, *glutathione peroxidase* (GPX), dan enzim *Superoxide Dismutase* (SOD) yang ditemukan di sitosol dan mitokondria. Beta-karoten adalah antioksidan yang ditemukan dalam sumber mikronutrien. Menurut (Winarsi H, 2007), antioksidan bertindak secara pada radikal bebas, oksidan, atau oksigen. Ini menghalangi proses dari senyawa oksigen reaktif maupun menjadikan senyawa yang awalnya peka bisa membuat kurang peka. *Autooksidasi* hemoglobin dan pembentukan *methemoglobin* terjadi karena adanya superoksida dalam eritrosit. Jika pertahanan antioksidan kurang, produksi *methemoglobin* dan ROS akan meningkat. Ini mengganggu keseimbangan prooksidan dan antioksidan dan menyebabkan *stress oksidatif*, yang merusak bagian-bagian sel. *Stress oksidatif* menyebabkan *peroksidasi lipid*, yang merupakan proses kompleks antara asam lemak tak jenuh ganda penyusun *fosfolipid* dengan ROS, yang menghasilkan *hidroperoksida*. Peningkatan *hidroperoksida* merusak eritrosit, menyebabkan eritrosit menjadi lisis atau hemolisis (Luchi, 2012).

2.1.13. Vitamin E

Vitamin E itu larut dalam lemak dan punya banyak fungsi biologis (Traber, MG. dan Packer, 1995). Istilah ini mencakup semua *tokoferol* dan turunannya, serta senyawa *stereoisomer* α -

tokoferol yang terjadi secara alami dan aktif secara biologis. Antioksidan pemecah rantai larut lipid yang paling efektif dalam membran biologis, dan melindungi struktur seluler terhadap kerusakan akibat radikal bebas oksigen dan produk reaktif *peroksidasi* lipid (Farrell, P. dan Roberts, 1994). Vitamin E juga membantu fungsi antibodi, serta memperbaiki DNA. Ini juga dapat mencegah penyakit kronis, terutama yang dianggap memiliki unsur *stres oksidatif* seperti kanker, aterosklerosis, dan penyakit kardiovaskular (US Department of Agriculture and Service, 2004). Vitamin E yang diberikan pada tikus menangkalkan efek buruk Pb dengan mengais radikal bebas dan dengan demikian mencegah *stres oksidatif* (Sajitha *et al.*, 2010). Di darah, timbal menghalangi enzim untuk bertanggung jawab untuk proses heme, yang merupakan faktor penting dari hemoglobin. Timbal memperlambat ALAD dan *ferrochelatase*, yang menyebabkan besi sulit mengganti *porfobilinogen* menjadi *uroporphobilinogen*, yang menyebabkan besi sulit untuk ke siklus *protoporfirin*, sebuah senyawa organik yang digunakan untuk pembentukan heme yang akan berikatan dengan besi dan memiliki kemampuan untuk mengikat oksigen dan meningkatkan *protoporfirin*zinc. Kadar hemoglobin menurun karena gangguan pembentukan heme. Selain bersifat prooksidan, timbal dapat menyebabkan *stress oksidatif*, yang dapat merusak membran eritrosit dan memperpendek umur eritrosit. Akibat kerusakan

membran dan efek umur, jumlah dan volume eritrosit dalam darah akan menurun (Lubis, 2013).

2.1.14. Hubungan Timbal dengan Anemia

Efek dari paparan timbal menyebabkan penurunan hemoglobin, sehingga dapat terjadi anemia. Kadar timbal yang tinggi di tubuh dapat mengganggu sistem hematologi karena mengganggu pembentukan sel darah merah dengan menghambat sintesis protoporfirin yang merupakan produk akhir dalam sintesis molekul heme dan menghambat penyerapan zat besi yang dapat menyebabkan terjadinya anemia. (Pramayoga Sinatra, Farizah Fahmi and Amir, 2020).

2.2. Kacang Kedelai

2.2.1. Kacang Kedelai

Kedelai mempunyai protein dan lemak nabati yang baik, supaya dapat menambah total protein yang diekstraksi dalam air, diperlukan perbaikan teknik penggilingan kedelai, penggunaan bahan yang sesuai untuk melarutkan protein sebanyak mungkin dan penyimpanan kedelai di tempat yang aman untuk menghindari reaksi kurang larut dalam air. Banyaknya protein kedelai yang dapat diekstrak selama pengolahan mempengaruhi kandungan protein kedelai olahan. Sifat fisik dan kimia biji kedelai juga memengaruhi

kandungan protein (Rani, H., Zulfahmi, Z., & Widodo and (2013), 2013).

2.2.2. Komposisi Kacang Kedelai

Karbohidrat kedelai terdiri dari basis kering Sekitar 35%; hanya 12–14 persen dari jumlah ini bisa dipakai tubuh sebagai biologis. Karbohidrat dalam kedelai ada dua jenis: *oligosakarida* dan *polisakarida*. Sukrosa, stakiosa, dan rafinosa, yang bisa tercampur di air adalah *oligosakarida*, dan *arabinogalaktan* adalah *polisakarida*. Selulosa tidak mudah bercampur dengan air serta alkohol adalah *polisakarida*. Kedelai biasanya dianggap sebagai sumber vitamin B sebab banyaknya vitamin B1, B2, nisin, piridoksin, dan golongan vitamin B lainnya. Sementara vitamin A dan D memiliki kandungan tidak besar, vitamin E dan K memiliki kandungan besar. Kadar vitamin C memiliki kadar rendah ditemukan di kedelai muda (Rani, H., Zulfahmi, Z., & Widodo and (2013), 2013).

2.2.3. Toksonomi Kedelai

Menurut (Cahyono., 2007), dalam klasifikasi kedelai, posisi kedelai di sistematika tanaman (taksonomi) diklasifikasikan yaitu :

Kingdom : *Plantae*
 Divisi : *Spermatophyta*
 Sub-divisi : *Angiospermae*
 Kelas : *Dicotyledonae*

Ordo	: <i>Polypetales</i>
Famili	: <i>Leguminosea</i>
Sub-famili	: <i>Papilionoideae</i>
Genus	: <i>Glycine</i>
Sprecies	: <i>Glycine max (L.) Merill</i>



Gambar 2.1. tepung kedelai

2.2.4. Manfaat Dan Nilai Gizi Kedelai

Kacang kedelai merupakan penghasil protein sangat baik dan ada manfaat bagi kesehatan.

- a) Kedelai memiliki banyak vitamin (vitamin A, E, K, serta macam vitamin B) dan mineral (K, besi, zink) meski sedikit asam lemak jenuh. Asam linoleat dan linolenat, dapat menjaga jantung, menyumbang 60% asam lemak tidak jenuhnya. Kolesterol tidak ada di kacang kedelai.
- b) Kandungan protein kacang berkisar antara 20–30 persen, sedangkan kedelai berkisar antara 35–38 persen. Kedelai juga menghasilkan banyak minyak. Kadar lemak jenuh minyak kedelai

kira-kira 15%, dengan kadar asam lemak tak jenuh sekitar 61% lemak tak jenuh ganda (PUFA) dan 24% lemak tak jenuh tunggal.

- c) Kedelai memiliki terdapat vitamin E tinggi dan larut di minyak. Namun, hanya sekitar 3% vitamin E yang terkandung dalam kedelai yang diproses menjadi minyak, tetapi limbahnya tetap merupakan sumber vitamin E yang sangat baik.

2.2.5. Hubungan Kacang Kedelai terhadap Kadar Hemoglobin

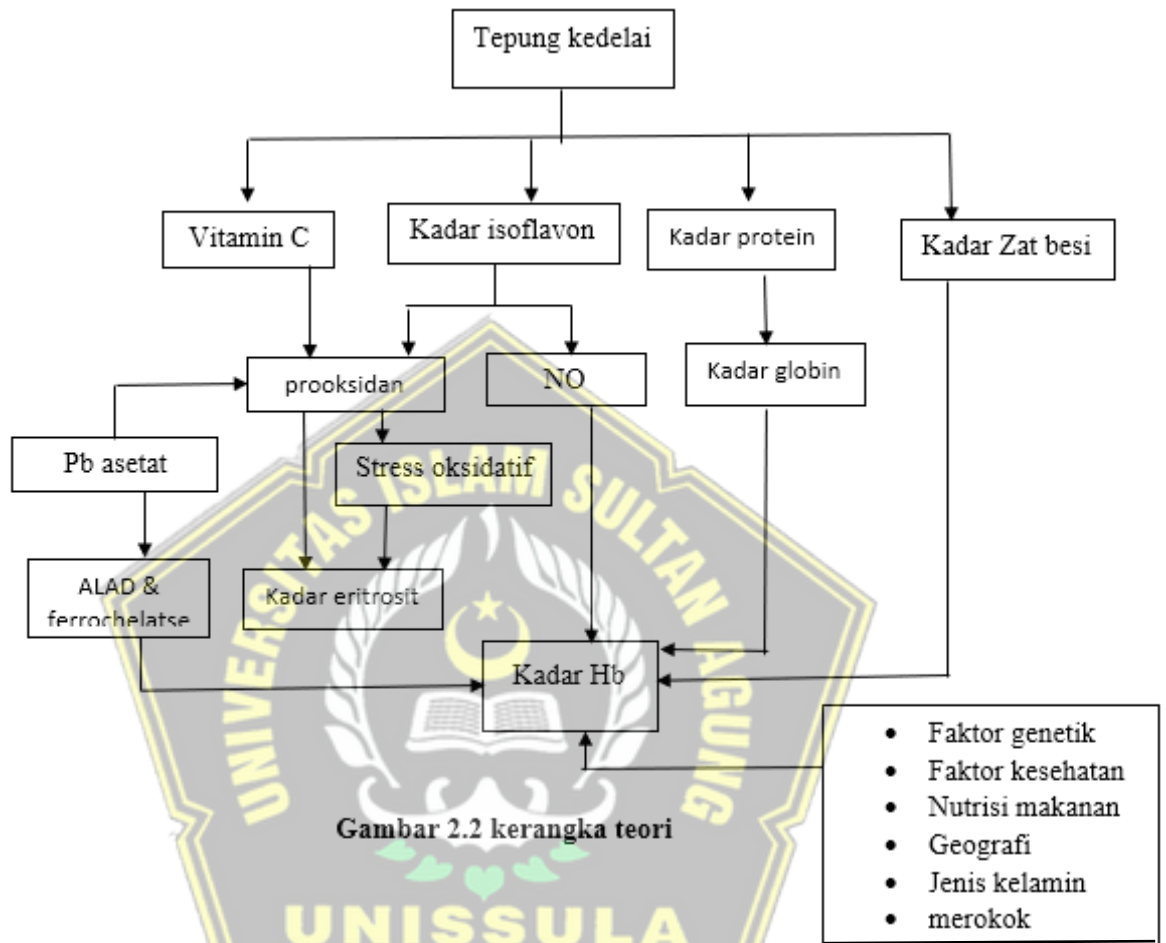
Kedelai mengandung asam lemak tidak jenuh esensial, serta penting bagi badan buat kesehatan. Kedelai memiliki zat besi dan vitamin C yang bisa menaikkan kadar Hb ke orang kurang darah (Astawan, 2014), karena kandungan proteinnya yang tinggi, makanan ini sangat ideal untuk dikonsumsi untuk membantu pembentukan hemoglobin (Amrin, 2013).

Pada saat masuk ke dalam tubuh dengan wujud ferri (Fe^{3+}), zat besi tersebut nantinya diubah menjadi zat besi (Fe^{2+}) berada di lambung dan dibantu asam lambung serta vitamin C, setelah masuk ke dalam usus kecil, zat besi akan penyerapan dekat proksimal, setelah diserap, besi terpisah dari apotransferrin dan memasuki sel mukosa. Besi akan terbelah menjadi 3 bagian, separuh dapat bisa terikat pada apotransferin dan sebagian lagi akan masuk ke dalam sel. Besi yang terikat pada transferin serum dikirimkan menuju tubuh, terpenting di hati, limpa, dan sumsum tulang. Setelah

memasuki mitokondria, besi ini dibelah dari serum transferin lalu menghidupkan enzim sitokrom oksidase, yang memungkinkan daur krebs berlanjut. Untuk menghasilkan energi, zat besi akan ke sumsum tulang dan berhubungan sama sel darah merah dan porfirin menjadi heme. Heme kemudian berhubungan sama globulin dan menjadi hemoglobin.

Kandungan protein kedelai sangat tinggi, mencapai 36%–46%, dan terdiri dari protein larut air (albumin) dan protein larut garam (globulin). Protein larut garam (globulin) menyumbang 80% dari protein kedelai dan *glycinin* (7S globulin) dan *conglycinin* (11S globulin) memiliki potensi untuk meningkatkan sekresi asam empedu. Globin yang dibuat oleh protein kedelai akan terikat pada heme menjadi Hb. Karena kandungan protein kedelai berkisar antara 35 dan 40%, subjek yang diberi kedelai kadar Hb meningkat. Karena protein globulin, 11S *glycinin* dan 7S-*conglycinin*, menyimpan 90% dari kandungan protein tersebut, *glycinin* mempunyai subunit A (asam) dan subunit B (basa), namun *conglycinin* mempunyai subunit A dan B. Kedelai memiliki banyak asam amino yang esensial, akibatnya sama dengan olahan hewani untuk segi mutu protein, tetapi tanpa kolesterol dan kadar lemak jenuh yang lebih rendah (Yuniwati, E. Yorita, 2014).

2.3. Kerangka teori



2.4. Kerangka konsep



Gambar 2.2. Kerangka Konsep

2.5. Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian tepung kedelai terhadap kadar hemoglobin

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan

Penelitian ini adalah jenis penelitian eksperimental yang menggunakan rancangan *Post Test Only Control Group Design*.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.2.1. Variabel Bebas

Variabel bebasnya ialah tepung kedelai.

3.2.2.2. Variabel Tergantung

Variabel tergantungnya ialah kadar hemoglobin.

3.2.2.3. Variabel Prakondisi

Variabel prakondisinya ialah Pb asetat

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Tepung Kacang Kedelai

Tepung kedelai dibeli dari kedelai lokal dan telah dikeringkan serta diproses sampai jadi tepung. Pembuatan tepung kedelai dilakukan di PSPG UGM. Tepung kedelai dikasihkan ke tikus sampai 14 hari. Tepung kedelai dicampur dengan aquades lalu dikasih ke tikus dengan cara per oral menggunakan teknik sonde. Pemberian tepung kedelai ke tikus yaitu 0,45 g/200 g/BB.

Skala Pengukuran: Ordinal

3.2.2.2. Kadar Hemoglobin

Kadar hemoglobin diukur Analyzer Hematology dalam laboratorium Pusat Study Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta (PSPG-PAU). Di hari keempat belas, darah diambil melalui mata tikus. Skala Pengukuran: Rasio

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi Penelitian

Populasinya yaitu tikus yang ada di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PAU) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Selama bulan Maret 2023.

3.3.2. Sampel Penelitian

3.3.2.1. Kriteria Inklusi

- a. Berat 200 gram
- b. Usia tikus 2 bulan
- c. Sehat di penampilan luar : gerak tampak aktif, makan dan minum normal, tidak cacat
- d. tikus jantan

3.3.2.2. Kriteria Drop Out

- a. Tikus yang mati selama penelitian

3.3.2.3. Besar Sampel

Penelitian ini, sampel yang digunakan disesuaikan pada standar Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), yaitu minimal lima hewan coba untuk setiap kelompok perlakuan dan enam tikus untuk setiap kelompok perlakuan, sehingga total 24 tikus digunakan.

3.2.2.4. Cara Sampling

Metode sampling acak sederhana digunakan untuk mengumpulkan sampel. Penelitian ini menggunakan lima puluh tikus dengan berat 200 gram, usia dua bulan, dan dalam kondisi sehat. Metode pemilihan ini digunakan secara acak, pertama-tama tikus diberi nomor urut dan kemudian diundi hingga terpilih 24 hewan untuk diuji. Dua puluh empat hewan coba tersebut kemudian dibagi menjadi empat kelompok, dengan enam hewan per kelompok.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen Penelitian Alat yang Digunakan :

- a. Spektrofotometer
- b. Kandang tikus dan perlengkapannya (tempat pakan dan minum)/ekor tikus.
- c. Alat untuk pemeriksaan berat badan tikus (timbangan digital)
- d. EDTA vac-tube
- e. Tabung reaksi

- f. sonde
- g. Hematology Analyzer

3.4.2. Bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan darah vena tikus, tepung kedelai, pakan standar, dan tikus.

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Penentmuan Awal

Kacang kedelai yang dibuat dari 25 gram kacang kedelai. Angka konversi pada manusia berat badan (70 kg) dengan tikus berat badan 200 gram adalah 0,018

Maka dosis untuk tikus :

= faktor konversi x dosis manusia

= 0,018 x 25 gram

= 0,45 gram/200 gram berat badan tikus

3.5.2. Penentuan Dosis Pb Asetat

24 tikus diberi timbal asetat secara peroral melalui sonde; sampel diberikan setiap hari sebanyak 1 mililiter di luar pakan atau minum selama 14 hari. Dosis yang digunakan 500 mg.

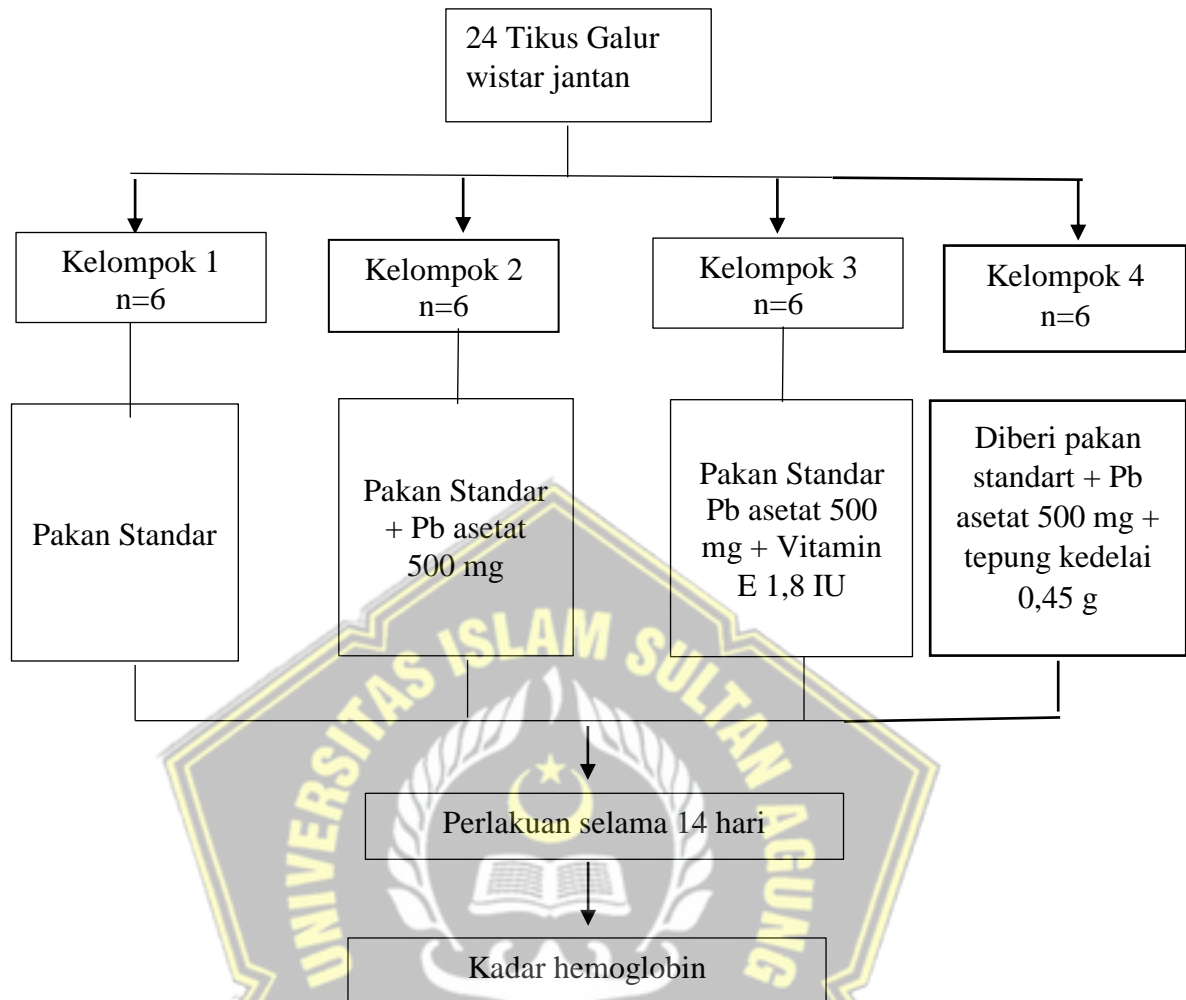
3.5.3. Penentuan Dosis Vitamin E

Vitamin E diberikan dalam bentuk tablet 100 mg kepada mencit dengan dosis 1,8 IU.

3.5.4. Prosedur Penelitian

Populasi yang digunakan adalah 50 ekor tikus yang digunakan pada penelitian ini adalah berat 200 gram, usia 2 bulan, dan sehat. Teknik pengambilan ini dilakukan secara acak pada awalnya tikus diberi nomer urut dan diundi hingga terpilih 24 hewan coba. 24 hewan coba tersebut selanjutnya dibagi 4 kelompok dan setiap kelompok dibagi menjadi 6 ekor.





3.5.5. Kelompok Penelitian

- 3.5.5.1. Kelompok 1 (K1) : kelompok kontrol diberi pakan standar.
- 3.5.5.2. Kelompok 2 (K2) : kelompok kontrol negatif diberi pakan standart + Pb asetat 500 mg
- 3.5.5.3. Kelompok 3 (K3) : kelompok positif diberi pakan standar + Pb asetat 500 mg + vitamin E 1,8 IU
- 3.5.5.4. Kelompok 4 (K4) : kelompok perlakuan diberi pakan standart + Pb asetat 500 mg + tepung kedelai 0,45 g

3.6. Tempat dan Waktu

3.6.1. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta serta analisa data dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang

3.6.2. Waktu penelitian

Penelitian telah dilaksanakan di bulan April 2023

3.7. Analisis Hasil

Hasil penelitian data diolah dengan menggunakan program *statistic product and service solution* (SPSS). Dilakukan uji normalitas data dan homogenitas terlebih dahulu. Uji normalitas menggunakan uji Shapiro-wilk dan pada uji homogenitas dengan menggunakan Levene test. Uji normalitas dan uji homogen didapatkan $p > 0,05$ berarti data normal dan homogen maka dilanjutkan Uji One Way Anova untuk mengetahui adanya perbedaan pada 4 kelompok penelitian. Uji post hoc untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar kelompok.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Penelitian Post Test Only Group Design dilakukan di bulan maret 2023 hingga April 2023 pada Laboratorium PSPG-PAU Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Didapatkan 24 ekor tikus galur wistar jantan penyesuaian sampai 1 minggu lalu dirandomisasi serta dibagi menjadi 4 kelompok K1,K2,K3 dan K4. Setiap kelompok terdiri dari 6 tikus galur wistar jantan.

1. Kelompok 1 (K1) : kelompok kontrol diberi pakan standart.
2. Kelompok 2 (K2) : kelompok kontrol negatif diberi pakan standart + Pb asetat 500 mg
3. Kelompok 3 (K3) : kelompok positif diberi pakan standar + Pb asetat 500 mg + vitamin E 1,8 IU
4. Kelompok 4 (K4) : kelompok perlakuan diberi pakan standart + Pb asetat 500 mg + tepung kedelai 0,45 g.

4.1.1. Hasil Pengukuran Kadar Hb

Tabel 4.1. Hasil Pengukuran Kadar Hb

	Kelompok			
	K1	K2	K3	K4
Kadar Hb (g/dl)	17,26	9,16	15,38	16,04
	16,16	9,42	15,05	15,31
	16,60	9,16	14,90	15,42
	17,30	9,09	15,42	15,64
	17,22	9,57	15,16	16,19
	16,12	9,37	14,76	15,38
Rerata kadar Hb (g/dl)	16,78 ± 0,55	9,29 ± 0,18	15,11 ± 0,26	15,66 ± 0,36

Hasil pengukuran kadar Hb ada di Tabel 4.1 yang diperoleh dari data 24 subjek yaitu 6 ekor tikus jantan dari kelompok K1,K2,K3 dan K4

Pada Tabel 4.1 bisa dilihat jika rata-rata kadar hemoglobin (Hb) terendah pada kelompok 2 sebesar $9,29 \pm 0,18$ dan rerata kadar hemoglobin tertinggi pada kelompok 1 sebesar $16,78 \pm 0,55$.

Data selanjutnya dianalisis menggunakan uji normalitas, uji homogenitas dan uji beda. Hasil uji normalitas dan *shapiro-wilk* dari 4 kelompok membuktikan distribusi data normal ($p > 0,05$) pada nilai p pada K1 = 0,078, nilai p pada K2 = 0,432, nilai p pada K3 = 0,718, nilai p pada K4 = 0,224.

Hasil uji homogenitas dengan *lavene test* menunjukkan nilai p = 0,060 ($p > 0,05$) artinya data homogen.

4.1.2. Hasil Analisis Pengukuran Kadar Hb

Hasil analisis penelitian ini disajikan pada Tabel 4.2 yang meliputi uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*, uji homogenitas menggunakan *Levene test* dan uji beda menggunakan *One Way Anova*.

Tabel 4.2. Rerata kadar Hb, hasil uji normalitas, homogenitas dan *One Way Anova*

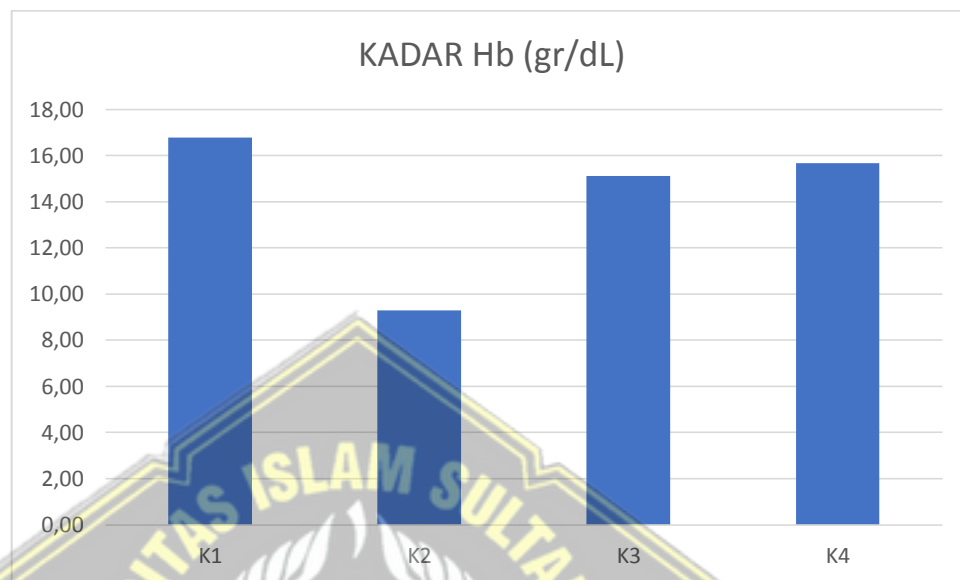
Variabel	Kelompok				<i>p-value</i>	
	K1	K2	K3	K4		
Kadar Hb (g/dl)	Mean SD	16,78±0,55	9,29±0,18	15,11±0,26	15,66±0,36	
	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,078*	0,432*	0,718*	0,224*	
	<i>Levene Test</i>					0,060 ⁺
	<i>One Way Anova</i>					0,000 [^]

Keterangan: tanda*menunjukkan hasil distribusi data normal ($p > 0,05$). Tanda + menunjukkan data homomgen dengan uji *Levene test* ($p > 0,05$). Tanda ^ menunjukkan hasil signifikan untuk uji *One Way Anova* ($p < 0,05$)

Berdasarkan tabel 4.2 membuktikan rata-rata kadar Hb di kelompok tikus jantan tanpa paparan timbal (K1) sebesar 16,78±0,55 g/dL, sedangkan pada kelompok tikus jantan terpapar timbal (K2) sebesar 9,29±0,18 g/dL. Pada kelompok tikus jantan terpapar timbal yang diberi vitamin E dengan dosis 1,8 IU/200grBB (K3) sebesar 15,11±0,26 g/dL, sedangkan kelompok dimana tikus jantan terpapar timbal yang diberi tepung kedelai 0,45 g/200grBB (K4) sebesar 15,66±0,36 g/dL.

Grafik dari rerata kadar Hb antar kelompok disajikan pada

Gambar 4.1



Gambar 4.1. Rerata kadar Hb antar Kelompok (K1: kelompok tikus jantan tanpa paparan timbal, K2: kelompok tikus jantan terpapar timbal, K3: kelompok tikus jantan terpapar timbal yang diberi vitamin E dengan dosis 1,8 IU/200grBB, K4: kelompok tikus jantan terpapar timbal yang diberi tepung kedelai 0,45 g/200grBB).

Hasil analisis menggunakan uji *One Way Anova* didapati nilai $p=0,000$ ($p<0,05$), yang menunjukkan tepung kedelai berdampak terhadap kadar Hb pada tikus galus wistar jantan yang terpapar timbal. Buat melihat perbedaan yang signifikan rata-rata kadar Hb antar keempat kelompok data dianalisis menggunakan uji *Post Hoc* LSD (Tabel 4.3.)

Tabel 4.3. Hasil analisis rerata kadar Hb dengan uji Post hoc LSD

	K2	K3	K4
K1	0,000	0,000	0,000
K2		0,000	0,000
K3			0,019

4.2. Pembahasan

Hasil penelitian membuktikan adanya dampak tepung kedelai selama 14 hari terhadap kadar Hb (nilai p : 0,005). Pemberian tepung kedelai berpengaruh meningkatkan jumlah kadar Hb. Kandungan zat besi dalam kedelai memiliki manfaat untuk menaikkan pembuatan eritrosit dan juga terdapat protein dalam kedelai yang dapat meningkatkan tingkat hemoglobin (Valentina *et al.*, 2020). Sulistyowati (2019) juga mencatat bahwa ada hubungan antara pemberian kedelai kepada remaja perempuan berhubungan dengan peningkatan kadar hemoglobin. Hasil penelitian lain mengindikasikan bahwa mengonsumsi susu tempe dapat meningkatkan kadar Hb di ibu hamil selama trimester ketiga pada Kota Bengkulu (Novianti, Asmariyah, 2019). Selain itu, ada hubungan antara minum susu tempe dan meningkatkan kadar Hb di ibu hamil di trimester ketiga pada Praktik Mandiri Bidan Zuhrah HH di Kecamatan Samudera Kabupaten Aceh Utara (Munthe, Novita BR Ginting, Siregar, Nursyidah and Sembiring, 2021).

Kadar Hb kelompok I lebih tinggi dari kelompok II, dengan kadar Hb tertinggi $16,78 \pm 0,55/\mu\text{L}$ (karena kelompok I tanpa dikasih perlakuan).

Kelompok II dikasih pakan standar dan timbal asetat dengan dosis 500 mg menunjukkan jumlah kadar Hb $9,29 \pm 0,18/\mu\text{L}$. Di penelitian yang dilaksanakan (Ansari, 2016) mempelajari yang bekerja dibengkel dan cat di Kota Karachi, Pakistan, dan menemukan bahwa, bahkan pada pekerja yang bekerja sedikit, mungkin mengalami anemia yang disebabkan oleh timbal, namun, kelompok kontrol mengalami tingkat timbal darah yang lebih rendah daripada kelompok kontrol karena paparan timbal yang terus menerus dan lama ($p < 0,0001$).

Plumbum yang dihirup melalui pernapasan dan kemudian diserap oleh tubuh melalui saluran pencernaan akan didistribusikan oleh aliran darah ke berbagai jaringan tubuh lainnya. Tubuh yang terpapar Pb dapat mengalami efek toksik. Timbal bisa masuk ke aliran darah dan berikatan dengan sel darah merah sebelum mengalami proses di dalam tubuh hingga mencapai tubulus proksimal, akibatnya ginjal terganggu dan timbal menghambat pertumbuhan enzim dalam jalur hem pada darah. Akibatnya, produksi hemoglobin dalam darah terhambat (Mulyadi, 2015).

Kelompok III yaitu dengan vitamin E 1,8 IU menunjukkan jumlah kadar Hb $15,11 \pm 0,26/\mu\text{L}$. Dalam sistem antioksidan sel, vitamin E berfungsi sebagai antioksidan utama dengan menjadikan radikal peroksil membentuk hidroperoksil lipid di membran sel. Cara yang dipakai di bagian membran sel tubuh, eritrosit, nantinya dapat menahan rusaknya sel. Anemia disebabkan oleh kekurangan vitamin E pada eritrosit (Sun Y, Ma A, Li Y, Han X, Wang Q, 2012).

Kelompok IV dengan tepung kacang kedelai dengan dosis 0,45 g menunjukkan jumlah kadar Hb $15,66 \pm 0,36/\mu\text{L}$. Kedelai mengandung protein yang dapat membantu transport zat besi dalam bentuk transferin sehingga dapat meningkatkan kadar hemoglobin. Dalam rangka untuk keperluan protein, terpenting dalam proses pembuatan hemoglobin. Kedelai yang kaya protein disimpan dalam hati, limpa, serta sumsum tulang (Sudoyo, 2017).

Hasil uji *Post Hoc LSD* untuk kadar hemoglobin ditunjukkan pada Tabel 4.3. Data menunjukkan bahwa kelompok kontrol dan kelompok perlakuan tepung kedelai menunjukkan angka 0,019, dengan nilai rendah dari 0,05 ($P < 0,05$), membuktikan perbedaan yang signifikan.

Kacang kedelai mengandung daidzein, genistein, asam alfa-linolenat, asam lemak omega-6, dan isoflavon. Kedelai kering terdiri dari 34% protein, 19% minyak, 34% karbohidrat (17% serat makanan), 5% mineral, dan bahan lainnya, seperti vitamin dan isoflavon. Asam folat, niasin, riboflavin, tiamin, fosfor, magnesium, seng, kalsium, dan zat besi dapat ditemukan dalam kacang kedelai. Kedelai adalah sumber protein dan minyak sayur yang baik, serta mengandung banyak asam amino esensial untuk manusia. Kanchana (2016).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tepung kacang kedelai mempengaruhi jumlah kadar hemoglobin karena kedelai memiliki potensi untuk mengatasi kebutuhan harian tubuh akan zat besi yang sulit dipenuhi melalui diet. Kandungan zat besi di kedelai berperan dalam menaikkan

produksi eritrosit. Ketika asupan zat besi tubuh kurang, hal ini dapat merangsang peningkatan penyerapan zat besi yang ada di makanan, mobilisasi cadangan zat besi di tubuh, lalu menurunkan transportasi zat besi dari makanan menuju sumsum tulang (Gibney *et al.* 2015). Hasil penelitian sebelumnya membuktikan hubungan kuat didalam vitamin C sama kadar hemoglobin siswi SMAN 1 Maya Gresik ($r = 0,780$). Kadar hemoglobin yang rendah disebabkan oleh asupan vitamin C yang rendah. Remaja putri yang kekurangan vitamin C memiliki risiko 1.58 terkena penyakit kurang darah dari seseorang yang memiliki asupan vitamin C yang cukup (Choiriyah, 2015). Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Marisa dan Wahyuni pada tahun 2019 menemukan terjadi korelasi antara tingkat timbal dan tingkat hemoglobin dalam sirkulasi darah. Dalam kelompok 10 petugas SPBU di Pt. Tabing Raya Kota Padang, terdapat 5 individu (50% dari total) punya kadar hemoglobin (Hb) yang normal dan yang terendah adalah 10,0 g/dL. Hasil pemeriksaan terhadap karyawan SPBU di Kota Padang membuktikan karyawan bekerja selama tujuh jam setiap hari, yang berarti mereka terpapar timbal pada bahan bakar seperti bensin dan solar selama tujuh jam. Inhalasi timbal dari udara mengakibatkan peningkatan kadar timbal di sirkulasi darah dan penurunan kadar Hb, karena timbal yang terabsorpsi di darah berinteraksi sama sel darah, menghalangi pembuatan hemoglobin.

Keterbatasan pada penelitian ini tidak dilakukan studi lebih lanjut untuk mengevaluasi mekanisme kerja dari komponen-komponen aktif dalam

kedelai yang mempengaruhi produksi hemoglobin dan meningkatkan jumlah sel darah merah.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Hasil serta pemeriksaan dari kacang kedelai kepada kadar hemoglobin di tikus galur wistar jantan yang diinduksi timbal asetat, dapat disimpulkan bahwa:

- 5.1.1. Rerata kadar Hb kelompok tikus galur wistar jantan yang diberi pakan standar. (K1) sebesar $16,78 \pm 0,55$ g/dL
- 5.1.2. Rerata kadar Hb kelompok tikus galur wistar jantan yang diberi pakan standart + Pb asetat 500 mg. (K2) sebesar $9,29 \pm 0,18$ g/dL
- 5.1.3. Rerata kadar Hb kelompok tikus galur wistar jantan yang diberi pakan standar + Pb asetat 500 mg + Vitamin E 1,8 IU. (K3) sebesar $15,11 \pm 0,26$ g/dL
- 5.1.4. Rerata kadar Hb kelompok tikus galur wistar jantan yang diberi pakan standar + Pb asetat 500 mg + tepung kedelai 0,45 g. (K4) sebesar $15,66 \pm 0,36$ g/dL
- 5.1.5. Terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

5.2. Saran

Penelitian selanjutnya dapat tentang mekanisme kerja dari komponen-komponen aktif dalam kedelai yang mempengaruhi produksi hemoglobin dan meningkatkan jumlah sel darah merah.



DAFTAR PUSTAKA

- Adiwijayanti, B.R. (2015) 'Hubungan Karakteristik Individu Terhadap Kadar Timbal Dalam Darah Dan Dampaknya Pada Kadar Hemoglobin Pekerja Percetakan Di Kawasan Megamall Ciputat Tahun 2015 Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta'.
- Ansari, S. (2016) 'Role of Alad Isoforms in Anemia and Correlation of Blood Lead Level With Hemoglobin Concentration in Automobile Paint'.
- Ardillah, Y. 2016 (2016) 'Faktor Risiko Kandungan Timbal di dalam Darah. Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat', *BMC Public Health*, 5(1), pp. 1–8. Available at: <https://ejournal.poltektegal.ac.id/index.php/siklus/article/view/298%0Ahttp://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.jana.2015.10.005%0Ahttp://www.biomedcentral.com/1471-2458/12/58%0Ahttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&P>.
- Astuti, R.Y. dan D.E. 2018 (2018) 'Anemia dalam Kehamilan', *Anemia dalam Kehamilan*, 8(5), p. 55.
- Cahyono. (2007) 'Kedelai. CV. Aneka Ilmu. Semarang.'
- Estridge, B.H. dan A.P.R. 2012 (2012) 'Basic Clinical Laboratory Techniques, (6th ed). New York: Delmar', 7(1), pp. 9–12.
- Farrell, P. dan Roberts, R. (1994) : 'Vitamin E. Dalam: Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC, ed. *Nutrisi modern dalam kesehatan dan penyakit*. edisi ke-8'.
- Handayani, W dan Haribowo, A.. 2008 (2008) "'Buku Ajar Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi', *Buku Ajar Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi*, pp. 76–80.
- Hasanan F (2018) 'Hubungan Kadar Hemoglobin dengan Daya Tahan Kardiovaskular pada Atlet Atletik FIK Universitas Negeri Makassar', *Journal of Materials Processing Technology*, 1(1), pp. 1–8. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cirp.2016.06.001%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.powtec.2016.12.055%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.ijfatigue.2019.02.006%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.04.024%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.127252%0Ahttp://dx.doi.o>.
- Lubis, D. (2013) 'Hubungan keracunan timbal dengan anemia defisiensi besi pada anak. *Jurnal CDK* 40 (1)'.
'
- Luchi, Y. (2012) 'Anemia Caused by Oxidative Stress. In *Tech:Croatia*'.

- Maretdiyani, A. 2013 (2013) 'Perbedaan kadar hemoglobin pada pasien persalinan normal dan setelah mendapat perawatan pengobatan di RSUD Banyumas', (February), p. 6.
- Muliyadi, H. M. dan H.N. (2015) 'Paparan timbal udara terhadap timbal darah, hemoglobin, crystatin c serum pekerja pengecatan mobil'.
- Munthe, Novita BR Ginting, G. . G., Siregar, Nursyidah, and I. and Sembiring, M. (2021) 'Pengaruh Konsumsi Susu Tempe Terhadap Kadar Haemoglobin Pada Ibu Hamil Trimester III''.
- Novianti, Asmariyah, and S. (2019) 'Pengaruh Pemberian Susu Tempe Terhadap Kadar Haemoglobin Pada Ibu Hamil Tm Iii'.
- Pramayoga Sinatra, D., Farizah Fahmi, N. and Amir, F. (2020) 'Paparan Timbal (Pb) Terhadap Kadar Hemoglobin di dalam Darah Lead Exposure Relationship (Pb) to Blood Hemoglobin Level', *Setia Budi Conference on Innovation in Health, Accounting, and Management Sciences* [Preprint].
- Rani, H., Zufahmi, Z., & Widodo, Y.R. and (2013) (2013) 'Optimasi proses pembuatan bubuk (tepung) kedelai', *Teknologi Pangan: Media Informasi ...*, 13(36), pp. 242–252. Available at: <https://jurnal.yudharta.ac.id/v2/index.php/Teknologi-Pangan/article/download/3444/2287>.
- Rizki, O.N. *et al.* (2020) *PENGARUH SUSU KEDELAI TERHADAP PENINGKATAN KADAR HEMOGLOBIN REMAJA PUTRI SMA NEGERI 1 PERHENTIAN RAJA KAMPAR.*
- Rizkiawati (2012) 'Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar Hb dalam darah tukang becak.', *Kesmas: National Public Health Journal*, 7(8), p. 344. Available at: <https://doi.org/10.21109/kesmas.v7i8.19>.
- Rumiyati. E, 2006 (2006) 'Hubungan Jumlah Eritrosit dengan Kadar Hemoglobin pada Siswa Kelas III Teuku Umar Semarang', *Hubungan Jumlah Eritrosit dengan Kadar Hemoglobin pada Siswa Kelas III Teuku Umar Semarang*, 1(3).
- Sun Y, Ma A, Li Y, Han X, Wang Q, L.H. (2012) 'Vitamin E supplementation protects erythrocyte membranes from oxidative stress in healthy Chinese middle-aged and elderly people.'
- Traber, MG. dan Packer, L. (1995) 'Vitamin E: Melampaui fungsi antioksidan.Amer. J.Clin. Nutr., (62): 15015 – 15095.'
- US Department of Agriculture, A.R. and Service (2004) 'USDA National Nutrition Database for Standard Reference, Rilis 16 – 1. Halaman Utama

Laboratorium Data Nutrisi’.

Valentina, A. *et al.* (2020) *Pengaruh Pemberian Susu Kedelai Terhadap Peningkatan Kadar Hemoglobin (Hb) Pada Ibu Hamil Yang Anemia Di Wilayah Kerja Puskesmas Lepo-Lepo Kota Kendari Tahun 2020.*

Wijaya, A.S dan Putri, Y.M. 2013 (2013) ‘Keperawatan Medikal Bedah 2, Keperawatan Dewasa Teori dan Contoh Askep’, *Keperawatan Medikal Bedah 2, Keperawatan Dewasa Teori dan Contoh Askep*, 2, pp. 2006–2007.

Winarsi H (2007) ‘Antioksidan alami dan radikal bebas potensi dan aplikasinya dalam kesehatan’, *Antioksidan alami dan radikal bebas potensi dan aplikasinya dalam kesehatan*, 20(5), pp. 40–3. Available at: https://books.google.co.id/books?id=D9_YDwAAQBAJ&pg=PA369&lp g=PA369&dq=Prawirohardjo,+Sarwono.+2010.+Buku+Acuan+Nasional +Pelayanan+Kesehatan++Maternal+dan+Neonatal.+Jakarta+:+PT+Bina +Pustaka+Sarwono+Prawirohardjo.&source=bl&ots=riWNmMFyEq&si g=ACfU3U0HyN3I.

Yuniwati, E. Yorita, and Y.L. (2014) ‘Pengaruh Pemberian Susu Tempe Terhadap Kadar Hemoglobin Pada Ibu Hamil Trimester III’.

