

**FORTIFIKASI DAN KETERSEDIAAN ZAT BESI PADA
BAHAN PANGAN BERBASIS KEDELAI MENGGUNAKAN
BESI EDTA, GLISINAT, FUMARAT, DAN SUKSINAT**

*(Iron Fortification and Its Availability on Soybean Based Using Iron EDTA,
Glycinate, Fumarate, and Succinate)*

Fauzan Amin^{1,2}, Agustino Zulys¹, dan Ridla Bakri¹

¹Departemen Kimia, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

²Program Studi Kimia, Sekolah Tinggi Analisis Kimia Cilegon-Banten

E-mail/Telp: khotibkhottob@gmail.com /085715034089

ABSTRAK

Penyebab utama dari anemia adalah rendahnya asupan zat besi dari makanan. Salah satu cara untuk mengurangi risiko anemia zat besi adalah dengan menambahkan fortifikan zat besi pada bahan pangan berbasis kedelai, seperti tempe, tahu, dan susu. Beberapa fortifikan zat besi yang biasa digunakan adalah besi EDTA, glisinat, fumarat, dan suksinat. Namun, belum diketahui jenis dan jumlah fortifikan terbaik untuk pangan berbasis kedelai. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui ketersediaan zat besi pada pangan berbasis kedelai dan menentukan jumlah fortifikan ideal yang ditambahkan pada sampel tempe, tahu, dan susu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel tempe dan susu memiliki kadar Fe tertinggi masing-masing 5,0709 mg dan 7,5684 mg dengan penambahan fortifikan besi EDTA sebesar 50 mg. Adapun sampel tahu memiliki kadar Fe tertinggi sebesar 1,5313 mg dengan penambahan besi EDTA 50 mg. Sampel susu memiliki kadar Fe mendekati kadar yang direkomendasikan (8-15 mg).

Kata kunci: anemia zat besi, fortifikasi, *in vitro*

ABSTRACT

The major cause of iron deficiency in human body is the low intake of iron from foods. One of strategy to overcome the iron deficiency anemia (IDA) in Indonesia is iron fortification to soya-based (i.e., soya milk, tempeh, and tofu) by adding iron fortificant. Some iron fortificants commonly used are iron EDTA, Glycinate, Fumarate, and succinate. However, number and the best fortificant in soybean basis is not yet known well. The objective of this research is to know and compare iron availability from these fortificant. The result showed that the highest iron availability in tempe and soymilk are 5,0709 and 7,5684 mg by adding 50 mg iron EDTA. Soybean sample also has the highest iron availability (1,5313 mg) by adding 50 mg iron EDTA. Soymilk sample has iron availability near Recommendation Dietary Allowance.

Key words: iron deficiency, fortificant, iron availability

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

1. PENDAHULUAN

Anemia gizi besi merupakan salah satu masalah kesehatan yang menjadi perhatian negara-negara berkembang. Hal tersebut dikarenakan kurangnya asupan zat besi yang dapat menyebabkan terganggunya proses-proses biologis dalam tubuh. Fakta terbaru menunjukkan bahwa kekurangan zat besi selama kehamilan dapat mempengaruhi pertumbuhan janin dan meningkatkan risiko kekurangan zat besi pada bayi. Para ilmuwan menemukan bahwa kekurangan zat besi pada anak-anak dapat memicu gangguan pertumbuhan fisik dan mental si kecil (Harun-Or-Rashid *et al.*, 2009).

Ada 2 jenis pendekatan yang dapat dilakukan guna mengatasi dan mencegah kekurangan zat besi, yakni pendekatan berbasis medis (*pharmaceutical based approach*) yakni dengan suplementasi dan pendekatan berbasis pangan (*food based approach*) yakni dengan perbaikan makanan/pangan dan fortifikasi pangan. Penanganan defisiensi zat besi melalui suplementasi tablet besi hanya meningkatkan kadar zat besi dalam jangka pendek, dibutuhkan biaya yang cukup tinggi, dan perlu motivasi yang berkelanjutan dalam mengkonsumsi suplemen (Mardiyati, 2008). Adapun pendekatan dengan perbaikan pangan membutuhkan biaya yang cukup tinggi serta sulit mengubah kebiasaan makan seseorang.

Fortifikasi pangan merupakan strategi yang paling tepat dalam menangani masalah defisiensi zat besi dalam jangka menengah dan panjang. Kelebihan lainnya adalah populasi sasarnya luas, tidak diperlukan sarana program khusus dalam pemberian, serta tingkat penerimaan dan tingkat kesinambungannya tinggi (Yprawira, 2010). Pangan berasal dari kedelai merupakan bahan pangan yang paling cocok digunakan untuk fortifikasi karena biasa dikonsumsi untuk semua lapisan, terutama kalangan menengah ke bawah. Hal yang harus diperhatikan dalam fortifikasi pangan adalah adanya inhibitor dalam penyerapan zat besi dan fortifikan yang digunakan.

Fortifikan menjadi salah satu kunci keberhasilan fortifikasi besi pada bahan pangan karena jenis dan jumlah fortifikan yang digunakan harus tepat sehingga memberikan sejumlah Fe yang cukup dan mudah diserap oleh tubuh. Fortifikan

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

yang biasa digunakan adalah besi EDTA, glisinat, fumarat, dan suksinat. Namun belum ada fortifikan yang optimal untuk ditambahkan pada bahan pangan berbasis kedelai. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk menentukan fortifikan terbaik untuk fortifikasi zat besi pada pangan berbasis kedelai dan jumlah fortifikan ideal pada sampel bahan pangan berbasis kedelai.

2. BAHAN DAN METODE

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu pompa vakum, *Schlenk Line*, *Icebath*, kompor, kain kassa, penyaring vakum, sentrifuge, *shaking waterbath*, dan pH universal. Adapun alat uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Fourier transform infra red* (FTIR) dan *atomic absorption spectrophotometer* (AAS) Unicam 989. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tempe, tahu, susu kedelai, fortifikan besi fumarat, asam sitrat, glisin, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaOH, $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, dan etanol. Larutan standar Fe dari $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 1000 ppm (Merch), aquademin, HNO_3 0.1 M, enzim pepsin, pankreatin, ekstrak bile, dan NaHCO_3 1M.

B. Prosedur Penelitian

Besi glisinat dibuat dengan metode yang sama seperti yang dilakukan oleh Yunarti *et al.* (2013) dan besi EDTA megacu pada prosedur yang dilakukan oleh Setyawati *et al.*, 2010. Sampel pangan berbasis kedelai yang digunakan adalah tempe, tahu, dan susu. Fortifikasi ketiga sampel tersebut mengikuti metode yang digunakan oleh Trihartiani (2013) dengan penambahan fortifikan besi EDTA, glisinat, fumarat, dan suksinat (masing-masing 0 mg, 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, dan 50 mg setiap fortifikan).

Penentuan ketersediaan Fe secara *in vitro* ditentukan dengan kelarutan Fe pada kondisi fisiologikalnya menggunakan enzim pepsin pankreatin dan ekstrak bile menurut metode yang dijelaskan oleh Svanberg (1993) dan sedikit modifikasi seperti dalam Matuschek *et al.* (2001). Sebanyak masing-masing 1 gram sampel tempe dan tahu yang telah difortifikasi (dilarutkan dalam 10 mL air aquabides)

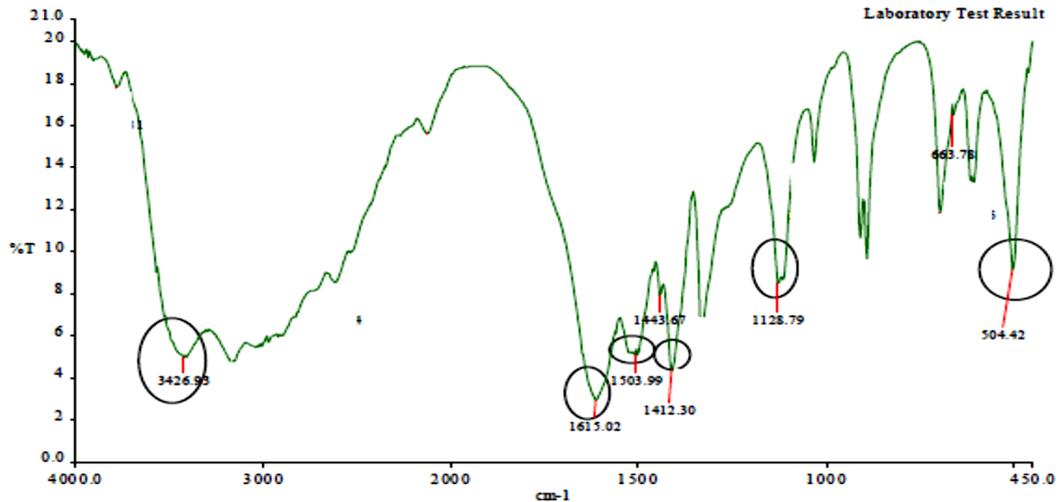
E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

atau 10 mL sampel susu ditambahkan 10 mL larutan pepsin (0,6% enzim pepsin dalam 0,1 mol/L HCl). Larutan pepsin tersebut ditambahkan langsung dalam sampel yang telah diinkubasi dalam enzim. Atur pH 2 dengan penambahan 0,1 M NaOH. Campuran diinkubasi dan diaduk dalam *shaking water bath* pada suhu 37 °C selama 90 menit. Setelah 90 menit ditambahkan 3 mL pankreatin dan larutan bile (0.012 gram pankreatin dan 0.075 gram ekstrak bile dalam 0,1 M NaHCO₃. Nilai pH diatur menjadi 5 dengan NaOH 0,1 M dan campuran disentrifuse dengan kecepatan 5000 putaran/menit selama 20 menit. Endapan disaring menggunakan filter 45 µm dan filtrat dianalisis untuk mengukur kelarutan besi dengan spektroskopi serapan atom (SSA). Jumlah kelarutan besi dalam filtrat dinyatakan sebagai persentase dari jumlah total besi dalam sampel.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Besi Glisinat merupakan kompleks besi yang terikat dengan dua molekul kelat asam amino glisin dengan rumus molekul Fe(COOCH₂NH₂)₂. Ikatannya terbentuk antara besi dan gugus karboksil serta gugus amina pada glisin membentuk dua cincin heterosiklik. Kedua ikatan antara α amina glisin dan oksigen dari gugus karboksil dengan Fe²⁺ yaitu ikatan kovalen koordinasi. Gugus amina (NH₂) dan oksigen dari gugus karboksil memiliki pasangan elektron yang dapat didonorkan kepada ion Fe sehingga bertindak sebagai basa lewis dan Fe sebagai asam lewis yang menyediakan orbital kosong untuk elektron. Hasil karakterisasi FTIR besi glisinat dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan hasil IR tersebut dapat dilihat puncak pada 1615 cm⁻¹ menandakan terbentuknya cincin heterosiklik besi glisinat. Spektrum amina heterosiklik ditunjukkan pada 3426 cm⁻¹. Pucak pada 504 cm⁻¹ menandakan adanya ikatan antara gugus karboksil pada glisin dan ion pusat Fe. Vibrasi ulur karboksil pada 1503 cm⁻¹. Ikatan C-N dan C-H pada pada bilangan gelombang 1128 dan 1412 cm⁻¹. Hasil tersebut sesuai dengan spektrum besi glisinat pada literatur.



Gambar 1. Hasil karakterisasi FTIR besi glisinat

Metode ketersediaan zat besi berdasarkan estimasi terlepasnya zat besi total dari makanan dengan adanya perlakuan pepsin-HCl yang merupakan simulasi yang ada pada getah lambung/cairan lambung (Narasingo dan Prabavathi, 1978). Lambung manusia memiliki kondisi yang hampir sama, yaitu kondisi asam. Hal tersebut dikarenakan adanya sekresi asam lambung oleh sel-sel mukosa lambung. Adapun enzim lain yang digunakan adalah cairan pankreatin *bile* yang menyerupai getah yang dikeluarkan oleh kelenjar pankreas. Cairan ini mengandung natrium bikarbonat yang menetralkan cairan dari lambung dan berfungsi memecah ikatan protein sampel (Miller *et al.*, 1981).

Inkubasi dalam *shaking water bath* dilakukan selama 1,5 jam pada suhu 37 °C. Selama inkubasi akan terjadi hidrolisis protein oleh enzim pepsin. Kondisi inkubasi disesuaikan dengan kondisi lambung, oleh karena itu digunakan suhu 37 °C yang merupakan suhu normal tubuh manusia. *Shaking water bath* merupakan simulasi sampel yang menyerupai gerak peristaltik lambung yang berfungsi menghomogenkan bahan makanan dengan getah lambung agar fungsi getah lambung optimal dan diperoleh campuran yang homogen.

Uji *in vitro* pada sampel tempe, tahu, dan susu dilakukan dengan penambahan fortifikan besi EDTA dan Glisinat (larut dalam air), Fumarat dan suksinat (sulit larut dalam air tetapi larut dalam asam encer). Masing-masing

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

fortifikan ditambahkan ke dalam tempe sebesar 0 mg, 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, dan 50 mg. Penambahan 0 mg bertujuan mengetahui kadar Fe tanpa adanya pengaruh penambahan fortifikan dan juga kadar Fe pada yang berasal dari kedelai. Adapun 10 mg – 50 mg dipilih karena dimungkinkan secara teori akan diperoleh kadar Fe sebesar 8 mg – 15 mg yang sesuai dengan *reccommendation dietary allowance*. Selain itu hasil penelitian Darlan (2012) menunjukkan bahwa fortifikasi ideal untuk NaFeEDTA adalah penambahan 25-45 mg. Hasil penelitian Yunarti *et al.* (2013) juga menunjukkan bahwa persen efektivitas tertinggi penambahan besi glisinat pada tempe dan tahu adalah 36 mg. Hasil uji *in vitro* tempe ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa dengan penambahan 10 mg fortifikan besi Fumarat, glisinat, dan EDTA terjadi kenaikan kadar Fe dibandingkan tanpa penambahan fortifikan (0 mg). Adapun besi suksinat baru mengalami kenaikan Fe setelah penambahan 20 mg. Kadar Fe tertinggi (5,0709 mg) diperoleh dengan penambahan 50 mg besi EDTA. Hasil tersebut cukup jauh dari kadar yang direkomendasikan (8 mg – 15 mg) karena ada pengaruh *inhibitor* yang mengganggu penyerapan Fe seperti fitat dan fenol.

Tabel 1 juga menunjukkan urutan fortifikan terbaik yang ditambahkan pada tempe, yaitu besi EDTA > besi Glisinat > besi Fumarat > besi Suksinat. EDTA memiliki kemampuan melindungi besi dari inhibitor lebih baik dari besi glisinat. Adapun pada besi glisinat memiliki kelat asam amino glisin yang dapat membantu penyerapan zat besi ke dalam tubuh karena glisin merupakan kelat yang dapat melindungi Fe berikatan dengan senyawa yang mengganggu seperti polifenol. Besi fumarat dan suksinat memiliki kelarutan yang lebih rendah sehingga ketersediaannya dalam panganpun lebih rendah dari besi EDTA dan glisinat. Besi dalam bentuk kompleks yang sukar larut dalam air akan memiliki ketersediaan rendah pada pH usus kecil.

Hasil uji *in vitro* tahu ditunjukkan pada Tabel 2. Tabel tersebut menunjukkan bahwa semua sampel tahu mengalami kenaikan kandungan Fe setelah ditambahkan fortifikan minimal 10 mg. Kadar Fe tertinggi (1,5313 mg)

diperoleh dengan penambahan 50 mg besi EDTA. Hasil tersebut sangat jauh dari kadar yang direkomendasikan (8 mg – 15 mg) dan lebih rendah dari kandungan Fe pada tempe karena pada tempe telah terjadi proses fermentasi. Fermentasi pada tempe dapat menurunkan *inhibitor* terhadap logam terutama senyawa fitat yang memiliki presentase sangat besar pada bahan pangan berbasis kedelai.

Tabel 1. Uji *in vitro* tempe dengan variasi fortifikan

Sampel	Fortifikan	Jumlah Penambahan (mg)	Kadar Fe (mg)
Tempe	Besi Fumarat	0	0,1396
		10	0,7530
		20	0,5241
		30	0,7370
		40	0,8720
		50	1,2977
Tempe	Besi Glisinat	0	0,1892
		10	0,7428
		20	1,0650
		30	0,4065
		40	1,5304
		50	1,1269
Tempe	Besi EDTA	0	0,1783
		10	0,8659
		20	1,5980
		30	2,8135
		40	4,4890
		50	5,0709
Tempe	Besi Suksinat	0	0,1984
		10	0,1950
		20	0,3797
		30	0,3130
		40	0,3267
		50	0,5662

Keterangan = rerata dari 2x ulangan

Tabel 2 juga menunjukkan urutan fortifikan terbaik yang ditambahkan pada tahu, yaitu besi EDTA > besi fumarat > besi glisinat > besi suksinat. Terdapat perbedaan urutan fortifikan terbaik pada sampel tempe dan tahu, yaitu besi fumarat yang sedikit lebih baik dibanding glisinat karena besi fumarat memiliki kelarutan yang lebih baik pada larutan asam encer. Pada proses pembuatan tahu ditambahkan asam cuka encer untuk membantu penggumpalan tahu. Keberadaan asam cuka tersebut dapat membuat ketersediaan fumarat lebih baik dari glisinat.

Kadar Fe pada susu kedelai yang difortifikasi dengan empat fortifikan ditunjukkan pada Tabel 3. Susu kedelai memiliki kondisi yang sama dengan sampel tahu, yaitu kandungan Fe yang meningkat dengan penambahan fortifikan minimal 10 mg. Kadar Fe tertinggi (7,5684 mg) pada penambahan fortifikan Besi EDTA sebanyak 50 mg. Hasil tersebut sangat mendekati dengan kadar yang direkomendasikan (8 mg – 15 mg) dan lebih besar dibandingkan pada tahu dan tempe. Hal tersebut dikarenakan pada pembuatan susu, penambahan fortifikan dilakukan pada sari-sari kedelai yang memungkinkan *inhibitor* banyak terbuang.

Tabel 2. Uji *in vitro* tahu dengan variasi fortifikan

Sampel	Fortifikan	Jumlah Penambahan (mg)	Kadar Fe (mg)
Tahu	Besi Fumarat	0	0,0966
		10	0,2434
		20	0,1155
		30	0,1824
		40	0,2736
		50	0,4019
Tahu	Besi Glisinat	0	0,0651
		10	0,1926
		20	0,1277
		30	0,1959
		40	0,2373
		50	0,3932
Tahu	Besi EDTA	0	0,1166
		10	0,5528
		20	0,6261
		30	0,8836
		40	1,3265
		50	1,5313
Tahu	Besi Suksinat	0	0,0038
		10	0,0233
		20	0,0383
		30	0,0283
		40	0,0150
		50	0,1592

Keterangan = rerata dari 2x ulangan

Seperti halnya tempe dan tahu, Tabel 3 juga menunjukkan urutan fortifikan terbaik pada susu, yaitu besi EDTA > besi suksinat > besi fumarat > besi glisinat. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Aguilar *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa sampel susu terfortifikasi besi EDTA lebih besar penyerapannya dibandingkan besi glisinat, dan fumarat. Besi suksinat memiliki *availability* yang lebih baik pada susu dibandingkan pada tempe dan tahu. Hal

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

tersebut mungkin dikarenakan pada susu menggunakan air sebanyak 200 mL. Hal tersebut menyebabkan semakin banyak besi suksinat yang dapat larut. Besi glisinat memiliki kadar Fe terkecil dikarenakan kelarutan dan kestabilannya dipengaruhi pH. Pada pH di bawah 3 atau di atas 4, besi glisinat akan putus ikatan kelatnya (Anton *et al.*, 2006).

Tabel 3. Uji *In vitro* susu dengan variasi fortifikan

Sampel	Fortifikan	Jumlah Penambahan (mg)	Kadar Fe (mg)
Susu Kedelai	Besi Fumarat	0	0,4594
		10	0,9493
		20	1,2970
		30	1,9493
		40	1,3096
		50	2,8249
Susu Kedelai	Besi Glisinat	0	0,5348
		10	0,6884
		20	0,2009
		30	0,9545
		40	1,1973
		50	0,6223
Susu Kedelai	Besi EDTA	0	0,0691
		10	1,6582
		20	3,5127
		30	4,8891
		40	6,7995
		50	7,5846
Susu Kedelai	Besi Suksinat	0	0,6230
		10	0,9499
		20	1,6925
		30	2,1378
		40	2,1065
		50	2,5137

Keterangan = rerata dari 2x ulangan

Kadar Fe yang dihasilkan jauh lebih kecil dibandingkan dengan jumlah fortifikan yang ditambahkan karena pengaruh *inhibitor* pada pangan berbasis kedelai yaitu polifenol dan asam fitat. Satu mol polifenol dapat mengikat 3 mol Fe sehingga fortifikan besi fumarat dan suksinat cenderung memiliki kadar Fe kecil karena tidak memiliki kemampuan melindungi dari *inhibitor* polifenol. Adapun fitat memiliki rasio molar terhadap Fe adalah 2,34 pada tempe. Rasio molar yang kecil inilah yang menyebabkan tempe memiliki kadar Fe lebih besar dari tahu karena adanya fermentasi.

Selain itu, ada juga faktor kelarutan dari masing-masing fortifikan yang digunakan. Besi glisinat, EDTA, fumarat, dan suksinat masing-masing pada suhu kamar memiliki kelarutan 10 gram/25 mL, 2,625 gram/25 mL, 35 mg/25 mL, dan kurang dari 35 mg/25 mL untuk besi suksinat. Hal tersebut yang menyebabkan besi fumarat dan suksinat memiliki kadar Fe lebih kecil pada sampel tempe, tahu, dan susu.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari fortifikasi tempe, tahu, dan susu, maka disarankan untuk lebih banyak meminum susu kedelai dengan penambahan fortifikan besi EDTA agar mengurangi risiko kekurangan zat besi. Cara lainnya agar sesuai dengan kadar Fe yang direkomendasikan adalah melakukan kombinasi konsumsi tempe, tahu, dan susu. Misalnya pada pagi hari mengkonsumsi susu kedelai sebanyak 200 mL terfortifikasi 50 mg besi EDTA dan menjadikan 48 gram tempe atau 30 gram tahu terfortifikasi 10 mg besi EDTA sebagai lauk pada siang atau sore hari.

Kombinasi lainnya juga bisa dilakukan sesuai yang tertera pada Tabel 1 sampai 3 untuk mendapatkan asupan zat besi sesuai yang direkomendasikan (8-15 mg/hari). Selain itu juga dapat disimpulkan bahwa fortifikan besi EDTA lebih baik dibandingkan besi glisinat, suksinat, dan fumarat walaupun dalam sampel terdapat *inhibitor* seperti fitat dan polifenol. Ditinjau dari segi ekonomis, besi glisinat lebih mahal dibandingkan fortifikan lainnya dan besi fumarat merupakan fortifikan termurah (Turner dan Jack, 2010).

4. KESIMPULAN

Besi EDTA merupakan fortifikan yang paling baik dari besi glisinat, fumarat, dan suksinat. Hal tersebut dikarenakan besi EDTA memiliki kadar Fe tertinggi pada sampel tempe (5,0709 mg), tahu (1,5313 mg), dan susu (7,6584 mg). Hasil tersebut diperoleh dengan penambahan besi EDTA 50 mg. Adapun untuk mendapatkan fortifikan ideal diperlukan kombinasi dalam mengkonsumsi pangan berbasis kedelai per hari, misalnya susu kedelai sebanyak 200 mL terfortifikasi 50 mg besi EDTA dengan tempe terfortifikasi 10 mg besi EDTA.

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

Kombinasi lainnya juga bisa dilakukan untuk mencapai kadar Fe yang direkomendasikan (8 mg – 15 mg).

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar F, Charrondiere B, Dusemund P, Galtier J, & Gilbert DM. 2010. Scientific Opinion on The Use of Ferric Sodium EDTA as a Source of Iron Added for Nutritional Purposes to Foods for The General Population (Including Food Supplements) and to Foods for Particular Nutritional Uses. *Journal of European Food Safety Authority*, 8(1), 1414.
- Darlan A. 2012. Fortifikasi dan Ketersediaan Zat Besi pada Bahan Pangan Berbasis Kedelai dengan Menggunakan Fortifikan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Campuran $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} + \text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dan NaFeEDTA . [Tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Harun or-Rashid. 2009. Iron and Iodine Deficiencies Among Under-2 Children, Adolescent Girls, and Pregnant Women of Bangladesh: Association With Common Diseases. *Nagoya J. Med. Sci*, 71, 39 – 49.
- Anton R, Barlow S, Boskou D, Castle L, Crebelli R, Dekant W, Engel KH, & Forsythe S. 2006. Ferrous Bisglycinate as a Source of Iron for Use in The Manufacturing of Foods and in Food Supplements. *Journal of European Food Safety Authority*, 299, 1-17.
- Mardiyati E. 2008. Fortifikasi Garam dengan Zat Besi, Strategi Praktis dan Efektif Menanggulangi Anemia. <http://farmasi.ums.ac.id> [10 Juli 2013].
- Matuschek E, Towo E, & Svanberg U. 2001. Oxidation of Polyphenols in Phytate-Reduced High-Tannin Cereals: Effect on Different Phenolic Groups and on *In Vitro* Accessible Iron. *J Agric Food Chem*, 11, 5630-8.
- Miller DD, Schricker BR, Rasmussen RR, & Van Campen D. 1981. An *In Vitro* Method for Estimation of Iron Availability From Meals. *Am. J. Clin. Nutr*, 34, 2248-2256.

- Narasinga R, & Prabhavathi. 1978. An *In Vitro* Method for Predicting The Bioavailability of Iron From Foods. *The American Journal of Clinical Nutrition* ,31, 1 69-175 .
- Setyawati H, & Irmina. 2010. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Kompleks Besi (III) EDTA. Prosiding Seminar Nasional Sains. ISBN, 978-979-028-272-8.
- Svanberg U, Lorri W, & Sandbeag AS. 1993. Lactic Fermentation of Non-Tannin and High-Tannin Cereals: Effects on *In Vitro* Estimation of Iron Availability and Phytate Hydrolysis. *Journal of Food Science*, 58, 508 – 512.
- Trihartiani E. 2013. Efektivitas Ferrous Bisglycinate Sebagai Fortifikan Zat Besi terhadap Keberadaan Polifenol pada Pangan Berbasis Kedelai. [Skripsi]. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Turner E, & Jack. 2010. Increasing Bioavailability of Iron Fortified Food. <http://www.ift.org> [1 Mei 2014].
- Yunarti RT, Zulys A, Harahap LY, & Pramukti MSA. 2013. Effectiveness of Iron Fortification on Soy-Based Foods Using Ferrous Bisglycinate in the Presence of Phytic Acid. *Makara Journal of Science*, 17/1, 11-16.
- Yprawira. 2010. Program Fortifikasi Pangan. <http://www.yprawira.wordpress.com/program-fortifikasi-pangan.htm> [13 Jul 2013].