

Pengaruh Penambahan Bakteri Probiotik yang Dipacu dengan Prebiotik Ubi Jalar Terhadap Penurunan Jumlah Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro

Safitri Nur Rahmi¹, R. Fx. Saptono Putro², Suyana³

^{1,2,3} Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta

INTISARI

Bakteri probiotik adalah mikroba yang bersifat menguntungkan dari golongan Bakteri Asam Laktat (BAL). Antara bakteri yang menguntungkan dan patogen akan terjadi kompetisi. Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (BAL) di usus manusia dapat distimulasi dengan cara memberikan substrat- substrat yang dapat dicerna oleh bakteri tersebut sehingga populasinya meningkat dan melawan bakteri patogen. Substrat- substrat yang dapat digunakan oleh BAL untuk menstimulasi pertumbuhannya dikenal dengan nama prebiotik.

Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan berbagai dosis bakteri probiotik *Lactobacillus casei* terhadap jumlah penurunan bakteri *Shigella dysenteriae*.

Desain penelitian ini adalah *Post Test with Control*. Dalam desain penelitian ini terdapat kontrol dan kelompok eksperimen. Penghitungan jumlah Bakteri *Shigella dysenteriae* dengan menggunakan selektif media *Mac Conkey Agar*. Data didapatkan dari jumlah bakteri *Shigella dysenteriae* setelah penambahan probiotik *Lactobacillus casei*. Pengolahan data menggunakan software pengolah data. Uji statistik yang digunakan adalah *One Way Anova* dengan taraf signifikan 5%.

Hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan rerata jumlah penurunan bakteri *Shigella dysenteriae* pada media *Mac Conkey Agar* adalah 48.14×10^5 CFU/ml, 45.76×10^5 CFU/ml, 42.10×10^5 CFU/ml, 35.90×10^5 CFU/ml, 32.76×10^5 CFU/ml. Hasil uji *Anova One Way* diperoleh nilai signifikansi 0.000 (<0.05).

Ada pengaruh bermakna penambahan berbagai dosis bakteri probiotik *Lactobacillus casei* terhadap penurunan jumlah bakteri *Shigella dysenteriae*.

Kata Kunci: Probiotik, prebiotik, Bakteri Asam Laktat (BAL)

PENDAHULUAN

Diare merupakan salah satu penyebab utama kematian, terutama pada anak-anak. Sekitar 10% diare pada anak berusia dibawah lima tahun (balita) diseluruh dunia merupakan diare berdarah atau disentri. Dari seluruh kematian balita akibat diare, 15% berhubungan dengan diare berdarah. Di Indonesia, salah satu jenis disentri adalah *shigellosis* yang disebabkan oleh kuman *Shigella spp*¹.

Data profil kesehatan Indonesia tahun 2008 memperlihatkan terjadinya Kasus Luar Biasa (KLB) diare di 15 provinsi dengan jumlah penderita sebanyak 8.443 orang dan jumlah kematian sebanyak 209 orang. Kasus diare di kota Bogor pada tahun 2007 sebanyak 23.416 kasus².

Shigellosis merupakan diare yang ditandai dengan tinja yang berdarah dan berlendir disertai dengan gejala demam dan gembung (meteorismus). Spektrum klinis shigellosis cukup kuat, mulai dari diare cair, diare berdarah, diare persisten dan gejala lain di luar sistem pencernaan sebagai komplikasi akibat infeksi *Shigella spp*. Penyebaran *Shigella spp* terjadi secara feko-oral terutama dari orang ke orang melalui tangan yang terkontaminasi tinja atau ditularkan oleh vektor¹.

Mikroflora dalam usus dapat dibagi menjadi 2 kelompok yaitu bakteri menguntungkan dan merugikan (patogen). Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah salah satu mikroorganisme utama dalam saluran pencernaan manusia normal. Populasinya di dalam saluran pencernaan manusia dewasa diperkirakan 0.1% (sekitar 10^9) dari 10^{12} dari total populasi bakteri. Penelitian ini menggunakan perkiraan jumlah bakteri sebesar 10^8 CFU/ml agar dalam menentukan perkiraan jumlah bakteri dapat menggunakan standar *Mac Farland* sebagai standar kekeruhan³.

Bakteri probiotik adalah mikroba yang bersifat menguntungkan dari golongan Bakteri Asam Laktat (BAL). Antara bakteri yang menguntungkan dan patogen akan terjadi kompetisi. Mekanisme kompetisi dan antagonisme diantara bakteri saluran pencernaan menentukan terjadinya keseimbangan ekologi dengan mencegah pertumbuhan berlebihan dari masing-masing spesies penghuninya⁴.

Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (BAL) di usus manusia dapat distimulasi dengan cara memberikan substrat- substrat yang dapat dicerna oleh bakteri tersebut sehingga populasinya meningkat dan melawan bakteri patogen. Substrat- substrat yang dapat digunakan oleh BAL untuk menstimulasi pertumbuhannya dikenal dengan nama prebiotik. Beberapa contoh prebiotik adalah oligosakarida (rafinosa, fruktooligosakarida, verbaskosa, dan serat pangan)⁵.

Ubi jalar merupakan bahan yang baik untuk digunakan sebagai prebiotik karena mempunyai serat, rendah kalori, dan mengandung karbohidrat tinggi. Ubi jalar juga mempunyai beberapa kelebihan bila dibandingkan dengan tanaman pangan lainnya. Kelebihan ubi jalar antara lain dapat bertahan hidup dalam kondisi iklim yang kurang baik, tidak memilih jenis atau tipe tanah dan mempunyai nilai ekonomi penting sepanjang masa⁶.

Ubi jalar merupakan salah satu jenis umbi-umbian yang banyak dikenal dan cukup sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Ubi ini mengandung oligosakarida yang berpotensi sebagai prebiotik, salah satunya adalah rafinosa⁵.

JURNAL TEKNOLOGI LABORATORIUM

Volume 3 Nomor 2 Tahun 2014

Berdasarkan uraian di atas, akan dilakukan penelitian mengenai pengaruh penambahan bakteri probiotik *Lactobacillus casei* terhadap jumlah bakteri *Shigella dysenteriae* secara in vitro.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah eksperimen dengan desain penelitian *Post Test with Control*. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan software pengolah data. Uji statistik yang digunakan adalah *One Way Anova*.

Persiapan: Tahap pertama ubi jalar kuning dipilih yang telah berumur 3-5 bulan, kemudian dikupas, dicuci dan diiris hingga didapatkan irisan tipis. Irisan ubi jalar dikeringkan dengan oven pada suhu 60° selama 10 jam. Setelah benar-benar kering, Umbi dihancurkan menggunakan blender. Diayak sampai menjadi tepung. Kemudian disterilkan pada autoclave 70°C selama 24 jam.

Tepung ubi jalar ditimbang dengan menggunakan neraca analitik masing-masing 1 gram untuk 5 perlakuan. Ditambahkan media MRS Broth 5 ml ke dalam tepung ubi jalar pada tabung kemudian dilarutkan homogen. Diinokulasi dengan 1 ml, 2ml, 3ml, 4 ml dan 5 ml bakteri uji *Lactobacillus casei* 10⁸ CFU/ml dan bakteri uji *Shigella dysenteriae* 10⁸ CFU/ml masing-masing 1 ml. Diinkubasi 37°C selama 24 jam. Kemudian dilakukan pemeriksaan hitung jumlah bakteri *Lactobacillus casei* metode cawan sebar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian tentang Pengaruh Penambahan Bakteri Probiotik yang Dipacu dengan Prebiotik Ubi Jalar terhadap Penurunan Jumlah Bakteri *Shigella dysenteriae* secara In Vitro telah dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Yogyakarta, pada bulan Februari-Mei 2014.

Penelitian ini merupakan penelitian untuk mengetahui pengaruh berbagai dosis bakteri *Lactobacillus casei* terhadap penurunan jumlah bakteri *Shigella dysenteriae* secara in vitro. Berdasarkan penelitian yang dilakukan, didapatkan hasil bahwa semakin tinggi dosis bakteri *Lactobacillus casei* yang diberi prebiotik ubi jalar maka semakin menurun jumlah bakteri *Shigella dysenteriae*.

Penurunan jumlah bakteri *Shigella dysenteriae* disebabkan oleh oligosakarida pada ubi jalar yang difermentasi oleh bakteri *Lactobacillus casei* akan menghasilkan energi metabolisme dan asam lemak rantai pendek (terutama asam asetat dan asam laktat), sehingga jumlah mikroflora usus berubah. Selain asam, bakteri *L. casei* juga akan menghasilkan zat yang bersifat antimikroba. Semua zat yang dihasilkan oleh bakteri yang bersifat asam merupakan hasil fermentasi karbohidrat oligosakarida⁷.

Produksi asam tersebut akan menurunkan pH usus sehingga presentase bakteri *Lactobacillus casei* meningkat, sedangkan presentase bakteri *Shigella dysenteriae* akan menurun. Menurut Tomomatsu (1994) yang dikutip oleh Rini (2008), pertumbuhan bakteri patogen akan terhambat dengan adanya asam dan zat-zat antibakteri. Dengan demikian oligosakarida merupakan substrat yang baik untuk pertumbuhan *Lactobacillus casei* yang menguntungkan di dalam usus besar⁷.

Hasil penelitian dapat diketahui bahwa pada dosis bakteri *Lactobacillus casei* 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, dan 5 ml didapatkan rata-rata jumlah bakteri *Shigella*

JURNAL TEKNOLOGI LABORATORIUM

Volume 3 Nomor 2 Tahun 2014

dysenteriae masing-masing 48.14×10^5 CFU/ml, 45.76×10^5 CFU/ml, 42.10×10^5 CFU/ml, 35.90×10^5 CFU/ml, 32.76×10^5 CFU/ml.

Rerata penurunan jumlah bakteri *S.dysenteriae* setelah dihitung dari rerata kontrol dikurangi rerata masing-masing dosis, didapatkan jumlah bakteri *S.dysenteriae* yaitu 313.86×10^5 CFU/ml, 316.24×10^5 CFU/ml, 319.90×10^5 CFU/ml, 326.10×10^5 CFU/ml, 329.24×10^5 CFU/ml. Data tersebut menunjukkan semakin besar dosis bakteri *Lactobacillus casei* maka semakin besar penurunan jumlah bakteri *Shigella dysenteriae*.

Uji Regresi Linier, besarnya pengaruh penambahan berbagai dosis bakteri probiotik *L.casei* terhadap penurunan jumlah bakteri *S.dysenteriae* sebesar 69.6 % dan 30,4% dipengaruhi oleh faktor lain.

Pembuatan Standar Mac Farland bertujuan untuk pengendalian mutu dalam menentukan densitas suspensi bakteri yang digunakan dalam penelitian. Standar Mac Farland digunakan sebagai acuan untuk menyesuaikan kekeruhan suspensi bakteri sehingga jumlah bakteri akan berada dalam kisaran tertentu untuk membakukan pengujian mikroba. Standar Mac Farland yang dibuat secara manual dapat menghasilkan suspensi bakteri yang berbeda dalam uji pengulangan sehingga diperlukan alat atau metode yang lebih baik dari pembuatan Standar Mac Farland secara manual. Keuntungan dari penggunaan Standar Mac Farland adalah tidak ada waktu inkubasi. Kesalahan pengamatan kekeruhan dalam pembuatan Standar Mac Farland dapat mempengaruhi hasil penelitian.

Asam laktat merupakan salah satu asam lemah dan sebagai asam organik yang merupakan hasil fermentasi gula. Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri patogen oleh asam lemah dikarenakan terjadinya akumulasi anion dalam sel yang akan menghambat pertumbuhan mikroba karena kecepatan sintesa makromolekul menurun. Asam lemah yang tidak terdissosiasi bersifat lebih toksik dibandingkan dalam bentuk terdissosiasi sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba⁷.

Proses penghambatan yang dilakukan oleh bakteri *L.casei* terhadap bakteri patogen dengan melakukan kompetisi untuk mengambil substrat atau sumber nutrisi dan alterasi pH. *Lactobacillus casei* dapat mengurangi konstipasi dan diare, membantu meningkatkan pertahanan terhadap bakteri patogen, mencegah diare bawaan atau *traveller's diarrhea*⁷.

Adanya penambahan rafinosa pada media MRS Broth dalam suasana anaerob dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangbiakan *L.casei*, sehingga jumlah bakteri *L.casei* semakin banyak. Asam laktat yang dihasilkan dari hasil fermentasi homofermentatif *L.casei* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Sesuai dengan teori Roberfroid pada tahun 2007 bahwa pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (BAL) dapat distimulasi oleh penambahan substrat yang dapat dicerna oleh bakteri tersebut, substrat tersebut disebut prebiotik. Salah satu contoh prebiotik yaitu oligosakarida (rafinosa). Sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan, penambahan berbagai konsentrasi tepung ubi jalar yang mengandung rafinosa dapat meningkatkan jumlah bakteri *L.casei*⁶.

KESIMPULAN

JURNAL TEKNOLOGI LABORATORIUM

Volume 3 Nomor 2 Tahun 2014

1. Ada pengaruh yang bermakna penambahan berbagai dosis bakteri *Lactobacillus casei* terhadap jumlah penurunan bakteri *Shigella dysenteriae*.
2. Rerata kontrol dikurangi jumlah bakteri *Shigella dysenteriae* pada media Mac Conkey Agar adalah 48.14×10^5 CFU/ml, 45.76×10^5 CFU/ml, 42.10×10^5 CFU/ml, 35.90×10^5 CFU/ml, 32.76×10^5 CFU/ml.
3. Rerata penurunan jumlah bakteri *S.dysenteriae* dari dosis 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml dan 5 ml yaitu 313.86×10^5 CFU/ml, 316.24×10^5 CFU/ml, 319.90×10^5 CFU/ml, 326.10×10^5 CFU/ml, 329.24×10^5 CFU/ml. Data tersebut menunjukkan semakin besar dosis bakteri *Lactobacillus casei* maka semakin besar penurunan jumlah bakteri *Shigella dysenteriae*.
4. Persentase rerata penurunan bakteri *Shigella dysenteriae* secara berurutan dari dosis terendah adalah 31.38%, 31.62%, 31.99%, 32.61%, dan 32.92%.
5. Besarnya pengaruh penambahan berbagai dosis bakteri *L.casei* terhadap jumlah penurunan bakteri *Shigella dysenteriae* adalah 69.6 %.

SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disarankan:

1. Mengonsumsi minuman probiotik secara rutin dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen usus penyebab diare.
2. Perlu dilakukan penelitian yang sama menggunakan jenis bakteri probiotik lain seperti *Bifidobacteria*.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang bakteri probiotik secara in vivo.

DAFTAR PUSTAKA

1. Zulkifli, A. Arsunan, A. Dahlan, L. 2012. Faktor Risiko Diare Shigellosis pada Anak Balita. Makassar: *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. ISSN 1907-7505
2. Stephanandra, S. 2011. Isolat Bakteri Shigella dan Leukosit dari Anak-Anak Penderita Diare di Puskesmas Sindang Barang. *Skripsi*. Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Bogor: Institut Pertanian Bogor. Diunduh pada November 2013 dari repository.ipb.ac.id
3. Nocianitri K.A, Permana M, Sujaya I. N. 2011. Skrining Lactobacillus spp Untuk Pengembangan Probiotik Berbasis Susu Kedelai. *The Excellence Research Universitas Udayana*. Diunduh pada November 2013 dari lppm.unud.ac.id
4. Soeharsono. 2010. *Probiotik*. Bandung: Widya Padjadjaran
5. Agitya, D. A. 2013. Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi Tepung Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) terhadap Jumlah Bakteri Probiotik *Lactobacillus casei* Secara In Vitro. *Karya Tulis Ilmiah*. Tidak dipublikasikan
6. Rukmana, R.1994. *Ubi Jalar : Budi Daya dan Pascapanen*. Yogyakarta: Kanisius
7. Rini, Dwiari Sri. 2008. Pengujian Potensi Prebiotik Ubi Garut dan Ubi Jalar Serta Hasil Olahannya (Cookies dan Sweet Potato Flakes). *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor. Di unduh pada November 2013 dari repository.ipb.ac.id

JURNAL TEKNOLOGI LABORATORIUM
Volume 3 Nomor 2 Tahun 2014