

Yoghurt Sinbiotik Berbasis Probiotik Lokal Dapat Mencegah Diare dan Mengubah Status Hematologi Tikus

(SYNBIOTIC YOGHURT BASED ON INDIGENOUS PROBIOTIC: IT'S EFFECT ON DIARRHEA AND HEMATOLOGICAL STATUS IN RATS)

Made Astawan¹, Tutik Wresdiyati², Suliantari¹, Yenni MS Nababan¹

¹ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jl. Raya Dramaga, Bogor 16680, Telp.Fax (0251) 8626725, email: mastawan@yahoo.com

²Laboratorium Histologi, Fisiologi, dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB, Bogor

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengamati pengaruh pemberian yoghurt sinbiotik fungsional (yang dibuat dari probiotik indigenus + frukto oligosakarida/FOS) pada tikus yang diinfeksi dengan bakteri *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC), dan juga untuk melacak pengaruhnya terhadap status hematologi tikus percobaan. Sebanyak 25 ekor tikus jantan *Sprague Dawley* digunakan dalam penelitian ini, yang terbagi atas lima kelompok perlakuan, yaitu: (1) kontrol negatif, (2) kontrol positif, (3) yoghurt sinbiotik, (4) yoghurt sinbiotik + EPEC, dan (5) yoghurt prebiotik konvensional. Yoghurt diberikan secara oral menggunakan sonde sejak hari ke-1 sampai ke-21, dengan populasi bakteri asam laktat 10^9 cfu/mL. Infeksi EPEC dilakukan secara oral menggunakan sonde sejak hari ke-8 sampai ke-14, dengan populasi 10^7 cfu/mL. Pada hari ke-22 dilakukan pengambilan darah tikus dan dilakukan analisis hematologi (eritrosit, hematokrit, hemoglobin, trombosit, dan leukosit). Infeksi EPEC menyebabkan diare, baik pada tikus kelompok kontrol positif maupun kelompok yoghurt sinbiotik + EPEC. Kelompok tikus kontrol positif memiliki nilai trombosit, hematokrit, dan leukosit paling tinggi dan berbeda sangat nyata ($p < 0.01$) dengan kelompok tikus lainnya. Perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap jumlah eritrosit dan hemoglobin tikus. Pemberian yoghurt sinbiotik (baik pada kelompok yoghurt sinbiotik maupun kelompok yoghurt sinbiotik + EPEC), secara sangat nyata dapat menurunkan nilai leukosit, trombosit dan hematokrit tikus percobaan

Kata kunci: yoghurt sinbiotik, EPEC, FOS, hematologi

ABSTRACT

The objective of this study was to observe the effect of functional synbiotics yoghurt (made of indigenous probiotic + oligofructosaccharides) in rats that were infected with *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC), and to detect its effect on hematological status. A total of 25 male Sprague Dawley rats were used in this study and divided into five treatment groups: (i) negative-control; (ii) positive-control; (iii) synbiotic yoghurt; (iv) synbiotic yoghurt + EPEC; and (v) conventional prebiotic yoghurt. Yoghurt (10^9 cfu/mL lactic acid bacteria) was given orally using feeding tube at day one until day 4. At day 8 – day 14 animals were infected with EPEC (10^7 cfu/mL) orally using feeding tube; at day 22 blood samples were collected for hematology analysis (erythrocytes, hematocrit (Hct), hemoglobin (Hb), platelets, and leucocytes). Post infection with the EPEC diarrhea was developed in rats both in the control positive groups and in the synbiotic yoghurt + EPEC group. Animals in the positive-control group had a significantly higher thrombocytes and leucocytes counts and Hct compared to that in animals in the other groups ($P < 0.01$). Whereas there were no significant effect on the erythrocytes counts and Hb ($P > 0.05$). The treatment with synbiotic yoghurt, in both synbiotic yoghurt only and synbiotic yoghurt + EPEC groups significantly reduced the platelets and leucocytes counts and Hct of rats

Keywords: synbiotic yoghurt, EPEC, hematology.

PENDAHULUAN

Saluran pencernaan merupakan organ yang penting, baik secara fisiologi maupun mikrobiologi (Tamime *et al.*, 2005). Lebih dari 400 spesies bakteri ada di dalam usus manusia. Seluruh mikrob tersebut membentuk 100 triliun mikroflora normal yang hidup dari hari ke hari. Masing-masing mikroflora usus mensekresikan enzim yang mampu mengubah makanan dalam saluran pencernaan menjadi senyawa yang menguntungkan dan merugikan.

Diare merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang cukup kompleks karena jika tidak ditangani dengan baik, dapat memengaruhi pertahanan tubuh penderita, yang pada akhirnya dapat menimbulkan kematian. Penyebab diare terbesar adalah infeksi dan intoksikasi. WHO melaporkan ada sekitar 4 miliar kasus diare infeksi setiap tahun dengan tingkat mortalitas 3-4 juta/tahun (Zein *et al.*, 2004). Berbagai penelitian telah membuktikan bahwa secara *in vitro* bakteri probiotik galur *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* dapat menghambat penempelan dan invasi bakteri enteropatogen penyebab diare, seperti *Enteropatogenik Escherichia coli* (EPEC) dan *Salmonella thypimurium*.

Arief *et al.*, (2008) telah mendapatkan beberapa isolat bakteri asam laktat (BAL) probiotik lokal yang diisolasi dari daging sapi yang dipasarkan di daerah Bogor. Penelitian untuk menguji potensi isolat BAL temuan Arief *et al.*, (2008) sebagai antidiare dan imunomodulator telah dilakukan oleh Astawan *et al.*, (2011a) dan Astawan *et al.*, (2011b). Berdasarkan penelitian tersebut telah didapatkan bakteri probiotik lokal terbaik sebagai antidiare dan imunomodulator, yaitu *L. fermentum* 2B4. Lebih lanjut, bakteri *L. fermentum* 2B4 tersebut perlu diaplikasikan pada produk pangan fermentasi. Penelitian Astawan *et al.*, (2011c) menunjukkan bahwa aplikasi *L. fermentum* 2B4 menghasilkan yoghurt dengan karakteristik yang baik..

Fungsi darah dapat terganggu bila parameter darah tidak normal, sehingga menimbulkan penyakit atau gangguan pada darah dan fungsi darah, yang pada gilirannya dapat mengganggu organ lain. Walaupun target utama bakteri probiotik adalah saluran pencernaan, namun beberapa penelitian membuktikan bahwa efek imunomodulator probiotik terhadap gambaran hematologi dapat dijelaskan secara sistematis. Bakteri probiotik

yang diberikan secara oral mampu memengaruhi sistem metabolisme tubuh (Hattingh dan Viljoen, 2001), termasuk juga status hematologi (Aboderin dan Oyetayo, 2006)

Tujuan umum penelitian ini adalah mengaplikasikan bakteri asam laktat probiotik lokal, yaitu *Lactobacillus fermentum* 2B4 dalam pembuatan yoghurt sinbiotik fungsional yang bersifat sebagai antidiare dan imunomodulator. Tujuan khususnya adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian yoghurt sinbiotik terhadap kemampuan mencegah diare dan perbaikan status hematologi (eritrosit, leukosit, hemoglobin, trombosit dan hematokrit) tikus percobaan.

METODE PENELITIAN

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian adalah tikus percobaan galur *Sprague Dawley*, umur 5-6 minggu, jenis kelamin jantan, dengan kisaran bobot badan awal 80-100 g. Tikus tersebut diperoleh dari Pusat Studi Biofarmaka–Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat IPB. Ransum yang digunakan terdiri atas pati jagung, kasein, campuran mineral, campuran vitamin, air, minyak jagung, dan *carboximethylcellulose* (CMC).

Yoghurt sinbiotik dibuat dengan menggunakan isolat *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Lactobacillus fermentum* 2B4, yang ditambah dengan 5% FOS (Astawan *et al.*, 2011c). Sebagai pembanding digunakan yoghurt prebiotik konvensional yang dibuat dengan menggunakan isolat *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*, dan ditambah 5% FOS. Untuk membuat tikus diare diinfeksi isolat EPEC.

Hewan Percobaan dan Pengambilan Sampel

Tikus dibagi dalam lima kelompok perlakuan (Tabel 1). Infeksi EPEC dilakukan dengan populasi 10^7 cfu/mL sebanyak 1 mL per hari selama tujuh hari (hari ke-8 sampai ke-14), secara oral menggunakan sonde. Selama percobaan, semua kelompok tikus diberi pakan ransum standar (kasein sebagai sumber protein).

Pemberian yoghurt sinbiotik dilakukan selama tiga minggu penuh, yaitu dari hari ke-1 hingga ke-21. Yoghurt diberikan secara oral menggunakan sonde sebanyak 1 mL/hari (dengan populasi BAL sebanyak 10^9 cfu/mL)

Tabel 1. Kelompok tikus percobaan berdasarkan perlakuan yang diberikan

Kelompok Tikus	Perlakuan
Kontrol negatif	Tikus normal yang dicekok akuades
Kontrol positif	Tikus yang diinfeksi EPEC
Yoghurt sinbiotik	Tikus yang dicekok yoghurt sinbiotik
Yoghurt sinbiotik + EPEC	Tikus yang dicekok yoghurt sinbiotik dan diselingi infeksi EPEC
Yoghurt prebiotik konvensional	Tikus yang dicekok yoghurt prebiotik konvensional

Keterangan:

- Yoghurt diberikan secara oral menggunakan sonde sebanyak 1 mL/hari, sejak hari ke-1 sampai ke-22, dengan populasi BAL 10^9 cfu/mL.
- Infeksi EPEC dilakukan secara oral menggunakan sonde sebanyak 1 mL/hari, sejak hari ke-8 sampai ke-14, dengan populasi EFEC 10^7 cfu/mL.
- Terminasi tikus dilakukan masing-masing terhadap 5 ekor tikus pada hari ke-22

sejak hari ke-1 sampai ke-21. Pada hari ke-22 tikus dikorbankan nyawanya dengan cara *dislokasio cervicalis*. Darah diambil dari jantung dengan menggunakan *syringe* sebanyak 3 ml dan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi ethylenediamine-tetraacetic acid untuk analisis hematologi. Proses pengambilan sampel darah dilakukan melalui proses pembedahan, karena selain sampel darah, organ-organ lain (hati, ginjal, limpa dan usus halus) juga diambil untuk membuat sediaan histologi yang tidak dibahas dalam tulisan ini.

Kejadian Diare pada Tikus Terinfeksi EPEC

Kejadian diare tikus percobaan dapat diamati dengan cara mengukur kadar air feses yang dikumpulkan pada hari ke-20. Penentuan kadar air feses dilakukan dengan metode dari Association of Official Agricultural Chemist (AOAC, 1995).

Analisis Hematologi

Analisis hematologi dilakukan sesuai metode Aboderin dan Oyetayo (2006). Prosedur analisisnya sebagai berikut: sampel darah dimasukkan ke dalam tabung yang berisi EDTA. Analisis dilakukan dengan menggunakan alat Hemavet HV950FS *multispecies hematology analyzer*. Parameter yang dianalisis adalah: jumlah eritrosit, nilai hematokrit, kadar hemoglobin, jumlah leukosit, dan jumlah trombosit.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap, dengan lima perlakuan dan lima

ulangan. Data dianalisis keragamannya dan jika terdapat perbedaan yang nyata akan diuji lebih lanjut dengan uji beda Duncan (Steel dan Torrie, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Terjadinya Diare pada Tikus Terinfeksi EPEC

Sifat antidiare dari yoghurt sinbiotik ditunjukkan oleh tampilan feses dan kadar air feses tikus percobaan. Berdasarkan hasil pengamatan, tikus percobaan mulai mengalami diare pada hari ke-6 setelah infeksi EPEC pertama dilakukan. Hasil pengamatan terhadap tampilan feses tikus percobaan disajikan pada Tabel 2.

Menurut Hartanti (2010), kriteria diare tikus percobaan dibagi menjadi lima golongan, yaitu: (a) tanda feses normal (feses berbentuk bulat atau lonjong, berwarna hitam, dan keras), (b) tanda diare skor 1 (feses berbentuk bulat atau lonjong, berwarna hitam, dan agak lembek), (c) tanda diare skor 2 (feses berbentuk bulat atau lonjong, berwarna hitam, dan lembek), (d) tanda diare skor 3 (feses tidak berbentuk bulat maupun lonjong, berwarna agak kecoklatan, sangat lembek, hingga muncul lendir), dan (e) tanda diare skor 4 (feses cair, tidak berbentuk, berwarna coklat, hingga muncul lendir). Kondisi feses yang dinyatakan diare adalah feses dengan tanda diare skor 3 dan 4, sedangkan feses dengan tanda diare skor 1 dan 2 masih dinyatakan feses normal.

Meskipun mengalami perlakuan infeksi EPEC, tampilan feses tikus kelompok yoghurt

sinbiotik + EPEC tergolong feses normal. Sebaliknya, tikus kontrol positif (diberi EPEC tanpa yoghurt sinbiotik) menunjukkan gejala diare. Hal tersebut memperlihatkan bahwa yoghurt sinbiotik memiliki sifat antidiare. Probiotik dapat mencegah diare dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui produksi bakteriosin dan berkompetisi dengan patogen untuk berikatan dengan sel epitel (De Roos dan Katan, 2000).

Menurut Lee dan Salminen (2009), mikroflora dari orang sehat selalu dalam kondisi aktif secara metabolik dan berperan dalam mekanisme pertahanan tubuh. Menurut Zubillaga *et al.*, (2001), probiotik dapat menjaga keseimbangan mikroflora kolon melalui resistensi kolonisasi. Resistensi kolonisasi tersebut merupakan suatu cara yang dilakukan oleh probiotik untuk menghambat kolonisasi oleh bakteri lain, yaitu melalui kompetisi dalam

nutrisi atau sisi penempelan, penurunan pH, dan produksi komponen antimikroba (McCracken dan Gaskins, 1999). Dengan demikian, dalam keadaan tubuh normal (sehat), baik yoghurt sinbiotik maupun yoghurt prebiotik konvensional, mampu menjaga kesehatan tubuh.

Berdasarkan pengamatan diketahui adanya korelasi positif antara kadar air dan penampakan feses. Tikus kelompok kontrol negatif, kelompok yoghurt sinbiotik, dan kelompok yoghurt prebiotik konvensional memperlihatkan kadar air feses yang tidak berbeda nyata yaitu 55,94; 56,01; dan 63,62% (Tabel 3). Tikus kelompok kontrol positif memiliki kadar air feses yang nyata ($p < 0,05$) lebih tinggi (66,87%) dibandingkan tikus kelompok kontrol negatif (55,94%) dan kelompok yoghurt sinbiotik (56,01%), serta menunjukkan tampilan feses diare. Hal tersebut berarti bahwa infeksi EPEC

Tabel 2. Tampilan feses tikus percobaan

Perlakuan	Tampilan Feses	Kriteria Diare	Kategori Feses
Kontrol negatif	- Berbentuk lonjong - Berwarna hitam - Keras	Feses normal	Feses normal
Yoghurt sinbiotik	- Berbentuk lonjong - Berwarna hitam - Keras	Feses normal	Feses normal
Yoghurt sinbiotik + EPEC	- Berbentuk lonjong - Berwarna hitam - Lembek	Tanda diare skor 2	Feses diare
Kontrol positif	- Tidak berbentuk bulat ataupun lonjong - Berwarna agak kecoklatan - Lembek	Tanda diare skor 3	Feses diare
Yoghurt prebiotik konvensional	- Berbentuk lonjong - Berwarna hitam - Agak lembek	Tanda diare skor 1	Feses normal

Tabel 3. Kenaikan berat badan selama 21 hari percobaan dan kadar air feses tikus percobaan pada hari ke-20

Perlakuan	Kenaikan BB (g)	Kadar air feses (%)
Kontrol negatif	60,67 ^a	55,93 ^a
Yoghurt sinbiotik	62,67 ^a	56,01 ^a
Yoghurt sinbiotik + EPEC	50,00 ^b	64,85 ^b
Kontrol positif	48,34 ^b	66,87 ^b
Yoghurt prebiotik konvensional	59,67 ^{ab}	63,62 ^{ab}

Keterangan : Nilai sekolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

dapat menyebabkan terjadinya diare. Bakteri enterik patogen penyebab diare bekerja dengan cara melekat dan berpenetrasi ke dalam membrana mukosa intestinal agar dapat mencapai dan menyerang enterosit (sel epitel usus halus) serta menyebabkan infeksi klinis (Rinkinen *et al.*, 2003).

Menurut Janda dan Abbott (2006), EPEC menempel dengan pola *localized adherence* (LA). Bakteri EPEC dalam bentuk mikrokoloni menempel dengan kuat pada lokasi-lokasi tertentu dari permukaan sel epitelial dan menyebabkan kerusakan pada mikrovili usus. Kerusakan sel-sel mukosa vili tersebut menyebabkan penurunan kapasitas absorpsi cairan dan elektrolit karena luas area permukaan usus menurun (Muscari, 2001), akibatnya EPEC dapat menyebabkan diare.

Mekanisme perlindungan yang mungkin dari probiotik terhadap patogen antara lain melalui kompetisi penempelan pada sisi ikatan dan nutrisi, modulasi imunitas, atau sekresi senyawa antimikrob (Collado *et al.*, 2007). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kadar air feses tikus kelompok kontrol positif ternyata tidak berbeda nyata ($p > 0.05$) dengan kelompok yoghurt sinbiotik + EPEC. Hal tersebut kemungkinan karena diare yang dialami oleh tikus tersebut adalah diare ringan.

Menurut Muscari (2001), berdasarkan tingkat keparahannya, diare dikelompokkan menjadi diare ringan, diare sedang, dan diare berat. Diare ringan ditandai dengan karakteristik sedikit pengeluaran feses yang encer, tanpa gejala lain. Diare sedang dicirikan dengan karakteristik pengeluaran feses cair atau encer beberapa kali dan terjadi penurunan bobot badan. Diare berat ditandai dengan karakteristik pengeluaran feses yang banyak dan terlihat gejala dehidrasi sedang sampai

berat. Berdasarkan kriteria itu, tikus kelompok kontrol positif tergolong mengalami diare ringan, sehingga kadar air fesesnya tidak berbeda nyata dengan tikus kelompok yoghurt sinbiotik + EPEC. Menurut Sphelman *et al.* (2009), tikus dinyatakan mengalami diare berat apabila kadar air fesesnya mencapai di atas 80%.

Pertambahan Bobot Badan Tikus

Pertambahan bobot badan tikus selama 21 hari percobaan disajikan pada Tabel 3. Dari tabel tersebut terlihat bahwa keseluruhan kelompok tikus mengalami kenaikan bobot badan selama pemeliharaan. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kenaikan bobot badan tikus. Kenaikan bobot badan tikus kelompok negatif tidak berbeda nyata dengan kelompok yoghurt sinbiotik dan kelompok yoghurt prebiotik konvensional, tetapi nyata lebih tinggi dibandingkan tikus kelompok yoghurt sinbiotik + EPEC dan kelompok kontrol positif. Adanya perlakuan pemberian EPEC pada tikus kelompok sinbiotik + EPEC dan kelompok kontrol positif menyebabkan infeksi EPEC pada saluran pencernaan tikus. Hal tersebut menyebabkan penyerapan zat-zat gizi menjadi agak terhambat, sehingga pertumbuhan tikus pada kedua kelompok tersebut tidak berlangsung secara optimal.

Tidak terjadinya penurunan bobot badan pada tikus kelompok sinbiotik + EPEC dan kelompok kontrol positif pada penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Hartanti (2010) yang melaporkan bahwa tikus percobaan masih mengalami peningkatan bobot badan selama pengujian diare akibat EPEC. Hal tersebut mungkin terjadi karena diare yang dialami tikus memang tidak sampai menyebabkan tikus kekurangan cairan terlalu banyak, tetapi hanya

Tabel 4. Rataan jumlah eritrosit, leukosit, hemoglobin, trombosit, dan nilai hematokrit tikus percobaan pada hari ke-22

Perlakuan	Eritrosit (juta/ μ L)	Leukosit (sel/ μ L)	Hemoglobin (g/dL)	Trombosit (ribu/ μ L)	Hematokrit (%)
Kontrol negatif	7,26 ^a	2333 ^a	13,83 ^a	395 ^b	34,70 ^a
Yoghurt sinbiotik	7,47 ^a	3700 ^b	14,27 ^a	338 ^a	34,23 ^a
Yoghurt sinbiotik + EPEC	6,86 ^a	5167 ^c	13,80 ^a	376 ^b	35,03 ^a
Kontrol positif	7,51 ^a	6900 ^d	14,37 ^a	487 ^c	37,37 ^b
Yoghurt prebiotik konvensional	7,01 ^a	5000 ^c	13,73 ^a	388 ^b	34,57 ^a

Keterangan : Nilai sekolom yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ($p < 0.01$)

menyebabkan feses lembek, berukuran lebih besar, dan berwarna lebih pucat.

Bakteri EPEC merupakan salah satu penyebab diare, terutama pada anak-anak. Bakteri EPEC dapat mengakibatkan rusaknya mikrovili usus sehingga menimbulkan gangguan penyerapan zat-zat gizi dan menghambat pertumbuhan. Infeksi EPEC menyebabkan kerusakan mikrovili usus akibat adanya aktivitas proteolitik dari bakteri (Murtini *et al.*, 2005). Pelekatan bakteri patogen pada usus mengakibatkan kolonisasi, kerusakan sel, gangguan mekanisme pengaturan sel, pertumbuhan dan perkembangbiakan intraseluler.

Pada Tabel 3 disajikan pemberian yoghurt sinbiotik dapat mengoptimalkan penyerapan zat-zat gizi dalam tubuh tikus. Hal tersebut ditandai dengan kecenderungan kenaikan bobot badan tertinggi pada kelompok tikus yang diberi yoghurt sinbiotik. Hal tersebut juga memperlihatkan bahwa pemberian yoghurt sinbiotik dapat menjaga keseimbangan mikroflora pada saluran pencernaan, sehingga meminimalkan pengaruh buruk akibat diare.

Eritrosit

Jumlah eritrosit dipengaruhi oleh faktor umur, jenis kelamin, aktivitas tubuh, gizi, volume darah dan keadaan lingkungan. Agar hasil pengujian tidak bias oleh faktor-faktor tersebut, maka semua tikus percobaan dalam penelitian ini dijaga agar berada pada kondisi yang homogen. Hasil sidik ragam pada hari ke-22 percobaan (Tabel 4) menunjukkan bahwa perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap jumlah eritrosit.

Tabel 4 menunjukkan secara umum rata-rata jumlah eritrosit pada tiap kelompok perlakuan selama masa percobaan adalah $6,86-7,51 \times 10^6/\mu\text{L}$. Hal tersebut masih berada pada kisaran normal tikus percobaan, yaitu $6,6-9,0 \times 10^6/\mu\text{L}$ (Campbell, 2004).

Leukosit

Hasil sidik ragam pada hari ke-22 percobaan menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap jumlah leukosit tikus. Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa kelompok tikus kontrol positif memiliki kadar leukosit yang paling tinggi dan berbeda dibandingkan kelompok lainnya (Tabel 4). Hal tersebut mengindikasikan telah terjadi infeksi EPEC pada saluran pencernaan tikus. Walaupun demikian, kadar

leukosit kelompok tikus kontrol positif masih tergolong normal. Batas maksimal kadar leukosit normal tikus adalah $20.350 \text{ sel}/\mu\text{L}$ (Car *et al.*, 2006) atau $25.000 \text{ sel}/\mu\text{L}$ (Aboderin dan Oyetayo, 2006).

Adanya peningkatan leukosit secara signifikan disebabkan oleh reaksi pertahanan tubuh terhadap masuknya benda-benda asing. Leukosit mempunyai peranan dalam pertahanan seluler dan humoral organisme terhadap benda-benda asing. Peningkatan dan penurunan jumlah leukosit dapat terjadi karena pengaruh fisiologi atau patologi. Peningkatan jumlah leukosit dalam darah disebut leukositosis. Leukositosis yang terjadi karena faktor fisiologi dapat disebabkan oleh aktivitas otot, rangsangan ketakutan, dan gangguan emosional, sedangkan pengaruh patologi dapat disebabkan oleh proses apatologis dalam tanggapan terhadap serangan penyakit (Ganong, 2002).

Adanya peningkatan permeabilitas dinding pembuluh darah menyebabkan leukosit bermigrasi ke dalam jaringan yang mengalami perlukaan atau infeksi. Secara fisiologi hal tersebut terjadi akibat peningkatan jumlah sel neutrofil atau sel limfosit di dalam sirkulasi darah sehingga menyebabkan peningkatan jumlah leukosit total. Secara patologi, peningkatan leukosit disebabkan oleh leukosit aktif melawan infeksi dalam tubuh. Adanya infeksi akan merangsang pelepasan hormon adrenal yang memengaruhi peningkatan sirkulasi leukosit. Leukosit memiliki dua fungsi yaitu menghancurkan agen penyerang dengan proses fagositosis dan membentuk antibodi (Guyton dan HHHall, 1997).

Kelompok yoghurt sinbiotik + EPEC memiliki jumlah leukosit yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol positif. Hal tersebut terkait dengan kemampuan probiotik untuk bertindak sebagai *immunomodulator* (*imunostimulan*), sehingga dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Tannock, 1999). Walker (2008) melaporkan juga bahwa penempelan probiotik dapat merangsang aktifnya sel-sel epitel dan fungsi limfosit sehingga dapat meningkatkan kapasitas perlindungan pada sistem pertahanan mukosa. Bakteri probiotik dapat melekat pada permukaan usus untuk meningkatkan pertahanan saluran pencernaan inang. Probiotik dapat melindungi inang dari kolonisasi bakteri yang bersifat patogen dengan mekanisme yang berbeda-beda.

Hemoglobin

Hemoglobin (Hb) merupakan pigmen eritrosit yang terdiri dari protein kompleks terkonjugasi yang mengandung besi. Protein hemoglobin adalah globin, sedangkan warna merah disebabkan oleh warna heme. Heme adalah suatu senyawa metalik yang mengandung satu atom besi (Guyton dan HHHall, 1997). Kullisaar *et al.*, (2001) menjelaskan bahwa zat besi yang diserap dari lumen usus akan berikatan langsung dengan apotransferin yang membawa zat besi menuju sel hati untuk pembentukan hemoglobin. Hemoglobin merupakan media transpor oksigen dari paru-paru ke jaringan tubuh, dan oksigen merupakan bagian terpenting dari metabolisme tubuh untuk menghasilkan energi. Hemoglobin juga berfungsi membawa karbondioksida hasil metabolisme dari jaringan tubuh ke paru-paru untuk selanjutnya dikeluarkan saat bernafas (Guyton dan HHHall, 1997).

Hasil sidik ragam pada hari ke-22 menunjukkan bahwa perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap kadar hemoglobin (Tabel 4). Secara umum kadar hemoglobin pada tiap kelompok perlakuan antara 13,7–14,4 g/dL. Kadar tersebut masih berada pada kisaran normal hemoglobin tikus percobaan yaitu 12,0–17,5 g/dL (Danville, 1972). Hal tersebut mengindikasikan bahwa infeksi EPEC tidak sampai menurunkan kadar hemoglobin di dalam darah.

Trombosit

Jumlah trombosit tikus percobaan dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil sidik ragam pada hari ke-22 menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap jumlah trombosit tikus. Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa tikus kelompok yoghurt sinbiotik memiliki trombosit yang paling rendah (338.000/ μ L) dan berbeda dengan kelompok lainnya. Sebaliknya, tikus kelompok kontrol positif memiliki trombosit paling tinggi (487.000/ μ L) dan berbeda dengan kelompok lainnya. Hal tersebut mungkin disebabkan oleh adanya aktivitas patogen bakteri EPEC yang dapat melisis dinding mukosa usus dan menyebabkan luka. Luka yang terjadi menimbulkan kerusakan pada trombosit jaringan, sehingga jaringan mengeluarkan tromboplastin yang bereaksi dengan protrombin dan kalsium membentuk trombin. Trombin yang terbentuk bereaksi dengan fibrinogen menghasilkan fibrin, yang kemudian menutup jaringan yang luka.

Infeksi bakteri EPEC pada usus menyebabkan tubuh mensintesis trombosit untuk mengatasinya, sehingga meningkatkan jumlah trombositnya secara keseluruhan.

Tabel 4 juga menunjukkan bahwa kadar trombosit pada kelompok yoghurt sinbiotik + EPEC (376.000/ μ L) tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif (395.000/ μ L), tetapi nyata lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol positif. Hal tersebut mungkin disebabkan oleh kemampuan *Lactobacillus fermentum* 2B4 yang terkandung di dalam yoghurt untuk bertahan secara *in vivo* dalam saluran pencernaan. Mikrob BAL tersebut juga memiliki sifat yang menguntungkan inangnya dengan cara meningkatkan proliferasi limfosit dan menurunkan jumlah patogen (*E. coli*, *B. cereus*, *S. typhimurium*, dan *S. aureus*) (Nuraida *et al.* 2008).

Hematokrit

Gambaran pengaruh pemberian yoghurt terhadap nilai hematokrit disajikan pada Tabel 4. Hasil sidik ragam pada hari ke-22 menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap nilai hematokrit tikus.

Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa hematokrit tikus kelompok kontrol positif (37,37%) adalah yang paling tinggi dan berbeda dengan tikus kelompok lainnya. Tidak ada perbedaan nilai hematokrit antara tikus kelompok kontrol negatif, kelompok yoghurt sinbiotik, kelompok yoghurt sinbiotik + EPEC, dan kelompok yoghurt prebiotik konvensional, yaitu berkisar antara 34,23–35,03%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kondisi diare dapat menyebabkan peningkatan nilai hematokrit darah. Peningkatan nilai hematokrit terjadi pada saat tikus mengalami diare. Pada saat diare, feses menjadi lunak dan tidak berbentuk akibat naiknya konsentrasi air dalam feses. Tingginya konsentrasi air dalam feses menyebabkan kandungan air dalam tubuh berkurang, sehingga terjadi peningkatan persentase hematokrit.

SIMPULAN

Diare tingkat ringan akibat infeksi bakteri EPEC mengakibatkan tikus kelompok kontrol positif mengalami kenaikan bobot badan yang paling rendah dibandingkan tikus kelompok lainnya. Tikus kelompok kontrol positif

memiliki nilai leukosit, trombosit dan hematokrit yang paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya.

Pemberian yoghurt sinbiotik dapat menurunkan nilai leukosit, trombosit dan hematokrit tikus percobaan. Namun, jumlah eritrosit, hemoglobin, leukosit, trombosit, dan hematokrit yang diperoleh berada pada kisaran nilai-nilai normal.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh konsumsi yoghurt sinbiotik yang terbuat dari *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus fermentum* 2B4 dan penambahan 5% FOS terhadap kemampuannya dalam pencegahan diare dan perbaikan status hematologi manusia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional Republik Indonesia, yang telah memberikan dana penelitian melalui Hibah Kompetensi, Nomor Kontrak: 375/SP2H/PL/Dit.Litabmas/IV/2011, tanggal 14 April 2011, atas nama Made Astawan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aboderin FI, Oyetayo VO. 2006. Haematological studies of rats fed different doses of probiotic, *Lactobacillus plantarum*, isolated from fermenting corn slurry. *Pakistan J of Nutrition* 5 (2): 102-105
- Arief II, Maheswari RRA, Suryati T, Komariah, Rahayu S. 2008. Kualitas mikrobiologi sosis fermentasi daging sapi dan domba yang menggunakan kultur kering *Lactobacillus plantarum* 1B1 dengan umur yang berbeda. *Med Pet* 31:36-43
- Astawan M., Wresdiyati T., Arief II, Febiyanti D. 2011a. Potensi bakteri asam laktat probiotik indigenus sebagai antidiare dan imunomodulator. *J Teknol dan Ind Pangan* XXII (1): 11-16
- Astawan M, Wresdiyati T, Arief II, Suhesti E. 2011b. Gambaran hematologi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinfeksi *Escherichia coli* enteropatogenik dan diberikan probiotik. *Med Pet* 34 (1): 7-13
- Astawan M., Wresdiyati T, Suliantari, Nababan YMS. 2011c. Pembuatan yoghurt sinbiotik menggunakan bakteri asam laktat indigenus sebagai pangan fungsional antidiare. *Med Pet* (in press)
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis in The Association of Official Agricultural Chemist*. Washington DC: Association of Official Agricultural Chemist.
- Campbell TW. 2004. Mammalian hematology : Laboratory animals and miscellaneous species. In Thrall MA. (Ed) *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Lippincott Williams and Wilkins.
- Car BD, Eng VM, Everds NE, Bounous DI. 2006. Clinical pathology of the rats. In: Suckow MA, Weisbrith SH, Franklin CL (Eds). *The Laboratory rat*. USA: Elsevier Academic Press
- Collado MC, Meriluoto J, Salminen S. 2007. *In vitro* analysis of probiotic strain combinations to inhibit pathogen adhesion to human intestinal mucus. *Food Res Int* 40: 629-636.
- Danville I. 1972. *The Breeding, Care and Management of Experimental Animals*. University of Florida. The Inter State Printers and Publishers, Inc.
- De Roos NM, Katan MB. 2000. Effects of probiotics bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis. *Am J Clin Nutr* 71: 405-411
- Ganong, WF. 2002. *Fisiologi Kedokteran*. Edisi ke-20. Diterjemahkan oleh Widjajakusumah D. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran, Pp 486-510
- Guyton AC, Hall JE. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Diterjemahkan oleh Stiawan I. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Hartanti AW. 2010. Evaluasi Aktivitas Antidiare Isolat *Lactobacillus* dari Air Susu Ibu [tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Hatting LA, Viljoen BC. 2001. Yoghurt as probiotic carrier food. *Int Dairy J*. 1: 1-17
- Janda JM, Abbott SL. 2006. *The Enterobacteria*. Second Ed. Washington: ASM Press.

- Kullisaar T, Zilmer M, Mikelsaar M, Vilhelm T, Annuk H, Kamane C, Klik A. 2001. Two antioxidant Lactobacilli strains as promising probiotics. *Food Microbiol J*. 72: 215-224
- Lee YK, Salminen S. 2009. *Handbook of Probiotics and Prebiotics*. Second Edition. New Jersey: John Wiley and Sons, Inc.
- McCracken VJ, Gaskins HR. 1999. Probiotics and the immune system. In: Tannock GW (ed.). *Probiotics A Critical Review*. Wyomondham: Horizon Scientific Press, Pp 85-112.
- Murtini S, Nurhayati T, Purwanto SB, Wibawan IWT. 2005. Pengembangan metode produksi antigen protease *Escherichia coli* Enteropatogenik (EPEC). *J Med Vet Indonesia* 9 (1): 27-31.
- Muscari ME. 2001. *Panduan Belajar Keperawatan Pediatrik*. Edisi 3. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Nuraida L, Susanti, and Palupi NS. 2008. Probiotic propeption of *Lactobacillus fermentum* A17 isolated from milk. In Proceeding Sympotium on Diet, Nutrition and Immunity. Singapore, 16-17 April 2008.
- Rinkinen M, Jalava K, Westermarck E, Salminen S, Ouwehand AC. 2003. Interaction between probiotic lactic acid bacteria and canine enteric pathogens: a risk factor for intestinal *Enterococcus faecium* colonization. *Vet Microb* 92: 111-119.
- Spehlman ME, Dann SM, Hruz P, Hanson E, Mc.Cole DF, Eckmann L. 2009. CXCR2-dependent mucosal neutrophil influx protects against colitis-associated diarrhea caused by an attaching/effacing lesion-forming bacterial pathogen. *J Immunology* 183: 3333-3343
- Steel RGD, Torrie JH. 1995. *Principles and Procedures of Statistic: A Biometrical Approach*. 2nd edition. New York: McGraw Hill Book Co.
- Tamime AY, Saarela M, Sondergaard AK, Mistry VV, Shah NP. 2005. Production and maintenance of viability of probiotic microorganisms in dairy products. In Tamime AY. (Ed) *Probiotic Dairy Products*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. Pp 39-72.
- Tannock GW. 1999. *Probiotics: A Critical Review*. Nortfolk, England: Horizon Scientific Press.
- Walker WA. 2008. Role of Nutrients and Bacterial Colonization in the development of Intestinal Host Defense. *J Ped Gastroenterol. Nutr.* 30: 22000.
- Zein U, Kholid, and Josua. 2004. Diare Akut Disebabkan Bakteri. <http://www.litbang.usu.ac.id/modules/php>. [06 Februari 2010].
- Zubillaga M, Weill R, Postaire E, Goldman C, Caro R, Boccio J. 2001. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. *Nut Research* 21: 569-579.