

**KEEFEKTIFAN ANTIDIARE MINUMAN PROBIOTIK DARI
FERMENTASI BUAH SIRSAK GUNUNG (*Annona montana* Macf.) pada
MENCIT (*Mus musculus*) yang TERINFEKSI BAKTERI *Escherichia coli*.**

KARYA TULIS ILMIAH

Oleh:

DHEA AMELIA PUTRI

NIM 14.041



AKADEMI FARMASI PUTRA INDONESIA MALANG

JULI 2017

**KEEFEKTIFAN ANTIDIARE MINUMAN PROBIOTIK DARI
FERMENTASI BUAH SIRSAK GUNUNG (*Annona montana* Macf.) pada
MENCIT (*Mus musculus*) yang TERINFEKSI BAKTERI *Escherichia coli*.**

KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan kepada
Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang
untuk memenuhi salah satu persyaratan
dalam menyelesaikan program D-III
bidang Farmasi

OLEH

DHEA AMELIA PUTRI

NIM 14.041

AKADEMI FARMASI PUTRA INDONESIA MALANG

JULI 2017

KARYA TULIS ILMIAH

KEEFEKTIFAN ANTIDIARE MINUMAN PROBIOTIK DARI
FERMENTASI BUAH SIRSAK GUNUNG (*Annona montana* Macf.) pada
MENCIT (*Mus musculus*) yang TERINFEKSI BAKTERI *Escherichia coli*.

DHEA AMELIA PUTRI

NIM 14.041

Dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 17 Juni 2017
dan dinyatakan memenuhi persyaratan

Dewan Penguji,

Ambar Pidyasari, STP., M.P.

Penguji I

Ernanin Dyah Wijayanti, S.Si., M.P.

Penguji II

Fitri Eka Lestari, S. Gz.

MALANG

Penguji III

Mengetahui,
Pembantu Direktur I
Bidang Pembelajaran dan Kemahasiswaan

Mengesahkan,
Direktur

Nur Candra Eka Setiawan, S.Si., S.Pd., M.Pd.
NIDN. 0721058503

Ernanin Dyah Wijayanti, S.Si., M.P.
NIDN. 0723118404

**PERNYATAAN KEASLIAN
KARYA TULIS ILMIAH (KTI)**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dhea amelia putri

Nim : 14.041

Menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah (KTI) dengan judul :

“KEEFEKTIFAN ANTIDIARE MINUMAN PROBIOTIK DARI FERMENTASI BUAH SIRSAK GUNUNG (*Annona montana* Macf.) pada MENCIT (*Mus musculus*) yang TERINFEKSI BAKTERI *Escherichia coli*”

benar-benar merupakan hasil karya pribadi dan seluruh sumber yang dikutip dan dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Apabila ternyata didalam naskah KTI ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur **PLAGIASI**, saya bersedia KTI ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (A.Md. Farm) dibatalkan , serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

(Undang-undang No. 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan pasal 70).

Malang, 17 Juni 2017

Mahasiswa,



Dhea amelia putri

Nim: 14.04

ABSTRAK

Putri, Dhea Amelia. 2017. Keefektifan Antidiare Minuman Probiotik dari Fermentasi Buah Sirsak Gunung (*Annona Montana* Macf.) pada Mencit (*Mus Musculus*) yang Terinfeksi Bakteri *Escherichia coli*. Karya Tulis Ilmiah. Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Pembimbing: Ambar Fidyasari, STP., M.P.

Kata Kunci : Antidiare, *Escherichia coli*, Probiotik, Sirsak Gunung (*Annona Montana* Macf).

Tanaman sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) termasuk dalam satu famili dengan tanaman sirsak, yaitu *Annonaceae*. Buah sirsak gunung masih kurang pemanfaatannya dalam masyarakat. Penelitian ini bertujuan mengamati kemampuan minuman probiotik dari olahan buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) dalam menghambat diare pada mencit yang terinfeksi *Escherichia coli*. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak lengkap (RAL) yang terdiri atas 5 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan terdiri atas pemberian *Escherichia coli* dan akuades, *Escherichia coli* dan antibiotik Contrimoksazole, *Escherichia coli* dan minuman probiotik dengan perbandingan dosis 0,17 ml/kg bb, 0,25 ml/kg bb, dan 0,30 ml/kg bb. Parameter yang diamati adalah perbandingan diameter rembesan feses pada kertas saring, bentuk feses dan frekuensi defekasi. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik *One way anova* menggunakan sistem komputerisasi program SPSS. Hasil penelitian menunjukkan dosis yang paling efektif dalam mengatasi diare yaitu dosis 0,30ml/kgbb, sehingga minuman probiotik dari fermentasi buah sirsak gunung berpengaruh nyata dalam menghambat diare yang disebabkan oleh *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Putri, Dhea Amelia. 2017. *Effectiveness of antidiarrhea probiotic from fermentation of soursop fruits (Annona Montana Macf.) on mice (Mus Musculus) infected with bacteria Escherichia coli*. Scientific Paper. Putra Indonesia Pharmacy Academy Malang. Supervisor : Ambar Fidyasari, STP., M.P.

Key words : Antidiarrhea, Escherichia coli, probiotics, Soursop fruits (Annona Montana Macf).

The soursop plant (Annona montana Macf.) Is included in one family with soursop plants, Annonaceae. soursop plant is still less utilization in society .This study aims to observe the ability of probiotic drinks from soursop fruits (Annona Montana Macf). In inhibiting diarrhea in infected mice Escherichia coli. The design used was a complete randomized design consisting of 5 treatments and 5 replications. The treatments consisted of administration of Escherichia coli and aquadest, Escherichia coli and antibiotics contrimoksazole, Escherichia coli and probiotic drinks with a dose ratio of 0,17 ml/kg bb, 0,25 ml/kg bb, dan 0,30 ml/kg bb. The parameters observed were the ratio of faecal seepage diameter on filter paper, faecal shape and defecation frequency. The data obtained was analyzed by statistical test of One way anova using computerized system of SPSS program. The results showed the most effective dose in dealing with diarrhea that is dose 0,30ml / kgbb, so that probiotic drink from fermentation of soursop fruit of mountain had a significant effect on inhibiting diarrhea caused by Escherichia coli.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidaya- Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “ KEEFEKTIFAN ANTIDIARE MINUMAN PROBIOTIK DARI FERMENTASI BUAH SIRSAK GUNUNG (*Annona montana* Macf.) pada MENCIT (*Mus musculus*) yang TERINFEKSI BAKTERI *Escherichia coli*. ” tepat pada waktunya.

Adapun tujuan dari penulisan karya tulis ilmiah ini adalah sebagai persyaratan untuk menyelesaikan program D-III di Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.

Sehubungan dengan terselesainya penulisan Karya Tulis Ilmiah ini, saya mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak, yaitu sebagai berikut:

1. Ibu Ernani Dyah Wijayanti, S.Si., M.P., selaku Direktur Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang dan dosen penguji I.
2. Ibu Ambar Fidyasari, STP., M.P., selaku dosen pembimbing.
3. Ibu Fitri Eka Lestari, S. Gz., selaku dosen penguji II
4. Bapak dan Ibu Dosen Akademi Farmasi serta semua staf yang turut membantu mendukung selama penyelesaian Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Kedua orang tua yang telah mengorbankan banyak hal dan selalu memberi do'a serta motivasi dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Sahabat terdekat, rekan mahasiswa dan semua pihak yang telah memberikan dukungan, bimbingan, bantuan, serta arahan kepada penulis.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih mempunyai beberapa kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran akan sangat diharapkan . Semoga Karya Tulis Ilmiah ini bermanfaat.

Malang, Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

COVER	
LEMBAR PENGESAHAN	
LEMBAR KEASLIAN TULISAN	
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	iiix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Ruang lingkup dan keterbatasan penelitian.....	4
1.4.1 Ruang lingkup penelitian	4
1.4.2 Keterbatasan penelitian	5
1.5 Definisi Istilah	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Klasifikasi sirsak gunung (<i>annona montana</i> Macf).....	6
2.2 Kajian tentang sirsak gunung (<i>annona montana</i> Macf).....	6
2.3 Kajian tentang diare	7
2.3.1 Definisi diare	7
2.3.2 Klasifikasi diare.....	8
2.3.3 Penyebab diare	8
2.3.4 Patofisiologi Diare	12
2.4 Defekasi	13
2.5 Bakteri <i>E.coli</i>	15
2.6 Kajian tentang fermentasi	17
2.7 Kajian tentang probiotik.....	19

2.8	Bakteri Asam Laktat (BAL)	21
2.9	<i>Lactobacillus casei</i>	23
2.10	Kajian tentang hewan uji mencit	24
2.11	Kerangka teori	28
2.12	Kerangka konsep	29
2.13	Hipotesis.....	29
BAB III METODOLOGI PENELITIAN		31
3.1	Rancangan penelitian	31
3.2	Populasi dan sampel.....	32
3.3	Lokasi dan waktu penelitian.....	32
3.4	Definisi Operasional Variabel	32
3.5	Instrumen penelitian	34
3.6	Pengumpulan data.....	34
3.6.1	Pembuatan Sari Buah <i>Annona montana</i> Macf.	34
3.6.2	Fermentasi Minuman Probiotik sari buah <i>Annona montana</i> Macf .	34
3.6.3	Persiapan suspensi bakteri	35
3.6.4	Persiapan dan pemilihan hewan uji	35
3.6.5	Uji efektivitas antidiare minuman probiotik buah sirsak gunung(<i>Annona montana</i> Macf.).....	36
3.7	Analisis data	39
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		40
4.1	Hasil Penelitian dan Pembahasan	40
BAB V PENUTUP		47
5.1	Kesimpulan.....	47
5.2	Saran	47
DAFTAR RUJUKAN.....		48
LAMPIRAN		52

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabe.....	33
Tabel 3.2 Komposisi Ransum Aklimatisasi.....	36
Tabel 3.3 Perlakuan Pengujian Antidiare.....	37
Tabel 4.1 Karakteristik Hasil Fermentasi.....	40
Tabel 4.2 Rata- rata diameter rembesan feses pada kertas saring.....	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Sirsak gunung (<i>Annona montana</i> Msacf) (a), dan (b)sirsak lokal (<i>Annona muricana</i> L).....	6
Gambar 2.2 Struktur tubuh escherichia coli.....	16
Gambar 2.3 Lactobacillus casei.....	24
Gambar 3.1 Bagan alur penelitian.....	38

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Salah satu penyakit menular berbasis lingkungan yang masih menjadi masalah kesehatan dan merupakan salah satu penyebab morbiditas (kesakitan) dan mortalitas (kematian) anak-anak di dunia adalah infeksi saluran pencernaan. Sampai saat ini penyakit infeksi saluran pencernaan karena bakteri enteropatogen masih menjadi masalah di masyarakat yang sulit untuk ditanggulangi. Diperkirakan lebih dari empat milyar kejadian diare terjadi setiap tahunnya diseluruh dunia, termasuk 2.2 juta kematian per tahun akibat infeksi patogen enterik (WHO 2008). Dalam Buletin Jendela Data Informasi Kemenkes RI 2011, WHO melaporkan bahwa penyebab utama kematian pada balita adalah Diare (post neonatal) 14% dan Kematian pada bayi umur <1 bulan akibat Diare yaitu 2%. Terlihat bahwa Diare sebagai salah satu penyebab utama tingginya angka kematian anak di dunia.

Diare adalah suatu kondisi dimana seseorang buang air besar dengan konsentrasi lembek atau cair bahkan dapat berupa air saja dan frekuensinya lebih sering (biasanya tiga kali sehari atau lebih) dalam satu hari (Anonim, 2011). Pengobatan diare akibat infeksi bakteri enteropatogen umumnya dilakukan dengan menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik secara berlebihan telah melahirkan strain-strain bakteri patogen yang resisten terhadap antibiotik, salah satu pengobatan alternatif yang dapat dipilih adalah penggunaan kelompok bakteri yang secara kompetitif mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen enterik

dalam saluran pencernaan. Kelompok bakteri ini secara awam disebut bakteri baik, dan lebih dikenal sebagai bakteri probiotik (Sleator dalam Emmawati, 2014).

Istilah probiotik awalnya digunakan sebagai antonim dari antibiotik. Probiotik merupakan mikrobial hidup yang dapat mempengaruhi kesehatan dengan cara menyeimbangkan mikrobial dalam usus serta menghambat pertumbuhan mikrobial patogen. Adanya asam laktat sebagai metabolit bakteri asam laktat dapat menghalangi pertumbuhan bakteri patogen. Produk yang dikatakan sebagai probiotik harus mengandung bakteri probiotik dengan jumlah minimal 10^7 cfu/ml. Bakteri tersebut harus tahan terhadap pengolahan, tahan terhadap garam empedu, mampu melewati asam lambung dengan pH berkisar 3-5, dan mampu bertahan hidup di dalam saluran pencernaan sehingga dapat memberikan efek kesehatan yang baik bagi tubuh (Retnowati, 2014).

Probiotik telah banyak digunakan dalam pengobatan dan pencegahan penyakit diare yang disebabkan oleh infeksi bakteri enteropatogen dan rotavirus, necrotizing enterocolitis (NEC) dan inflammatory bowel disease (radang perut) (Culligan *et al.* 2009; Vasiljevic dan Shah 2008). Probiotik yang telah banyak dikenal saat ini umumnya merupakan kelompok bakteri asam laktat, terutama dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Probiotik yang sudah dikenal luas oleh masyarakat selama ini diproduksi dari hasil fermentasi susu. Dibuatnya minuman fermentasi berbahan dasar sari buah selain sebagai inovasi, minuman probiotik cocok untuk masyarakat yang laktointoleran dengan minuman berbahan dasar susu. Potensi inilah yang menjadi alasan digunakannya buah sirsak gunung

(*Annona montana* Macf.) sebagai bahan baku dikarenakan pemanfaatannya yang kurang.

Berdasarkan beberapa penelitian buah dapat diolah dalam bentuk fermentasi yang akan menghasilkan bakteri asam laktat (BAL). Beberapa sumber memaparkan bahwa pada buah-buahan dan sayuran seperti durian, nanas, sirsak, cacao, pisang, mangga, tomat, kubis, asinan sawi, selada, kacang panjang dan lain sebagainya adalah potensial sebagai sumber BAL (Misgiyarta & widowati, 2005). Bakteri asam laktat bukan hanya digunakan sebagai pengawet makanan tetapi juga menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen. Menurut Astawan (2011), dibuktikan bahwa secara *in vivo* bakteri asam laktat *L plantarum* 2C12 dan *L fermentum* 2B4 dapat berpotensi sebagai antidiare pada tikus yang diberi *Enteropathogenic Escherichia coli*. Pada penelitian Tambunan (2016), juga telah membuktikan bahwa minuman fermentasi laktat sari buah nanas dengan menggunakan starter *Lactobacillus casei* berpotensi sebagai minuman probiotik dan memiliki aktivitas anti bakteri terhadap jenis *Bacillus cereus*, *Escherecia coli*, *Staphylococcus aureus*. Dan juga penelitian Utami (2011), tentang Karakterisasi Molekular Bakteri Asam Laktat (BAL) Probiotik dengan Gen 16S rRNA yang Berpotensi Menghasilkan Bakteriosin dari Fermentasi Sirsak (*Annona muricata* .L).

Dari beberapa sumber yang telah memaparkan khasiat probiotik bagi kesehatan terutama menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam usus, maka dalam penelitian ini digunakan buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf) yang diolah menjadi minuman probiotik untuk mengetahui keefektifan antidiare pada mencit (*Mus musculus*) yang terinfeksi bakteri *Escherichia coli*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana keefektifan antidiare minuman probiotik dari fermentasi buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) pada mencit (*Mus musculus*) yang terinfeksi bakteri *Escherichia coli* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keefektifan antidiare minuman probiotik dari fermentasi buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) pada mencit (*Mus musculus*) yang terinfeksi bakteri *Escherichia coli*.

1.4 Ruang lingkup dan keterbatasan penelitian

1.4.1 Ruang lingkup penelitian

Ruang lingkup dalam penelitian ini meliputi pembuatan minuman probiotik dari fermentasi sirsak gunung, pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli*, penentuan dosis probiotik yang diberikan pada mencit, pengujian keefektifan antidiare minuman probiotik dari fermentasi buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) pada mencit (*Mus musculus*) yang terinfeksi bakteri *Escherichia coli*.

1.4.2 Keterbatasan penelitian

Adapun keterbatasan dalam penelitian ini yaitu :

1. Penentuan dosis yang diinduksikan pada mencit didapat dari berbagai literatur tumbuhan buah lain dikarenakan buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) belum pernah diteliti.

1.5 Definisi Istilah

Untuk menghindari penafsiran yang berbeda terhadap istilah yang digunakan dalam tulisan ini dan untuk memperjelas pemahaman tentang istilah yang terdapat dalam tulisan ini, maka perlu adanya definisi istilah sebagai berikut:

1. Diare adalah peningkatan pengeluaran tinja dengan konsistensi lebih lunak atau lebih cair dari biasanya, dan terjadi paling sedikit 3 kali dalam 24 jam.
2. Sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) adalah tanaman yang termasuk dalam satu famili dengan tanaman sirsak, yaitu Annonaceae. Buah ini memiliki bentuk bulat berwarna kuning dan beraroma harum.
3. Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup akan menyeimbangkan mikroba dalam usus serta dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen.
4. BAL (Bakteri Asam Laktat) adalah kelompok besar mikroorganisme yang secara alami terdapat pada banyak bahan pangan serta saluran gastrointestinal dan urogenital manusia dan hewan.
5. Fermentasi adalah proses konversi gula menjadi asam dengan bantuan bakteri yang berlangsung dalam kondisi tanpa adanya oksigen.
6. keefektifan adalah tingkat keberhasilan dalam suatu penelitian

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi sirsak gunung (*annona montana* Macf)

Genus : *Annona*
Spesies : *Annona montana* Macfad.
Divisio : *Magnoliophyta*
Class : *Magnoiopsida*
Subclass : *Magnoliidae*
Ordo : *Magnoliales*
Family : *Annonaceae*

2.2 Kajian tentang sirsak gunung (*annona montana* Macf)



Gambar 2. 1 Sirsak gunung (*Annona montana* Msacf) (a), dan (b)sirsak lokal (*Annona muricana* L) (Sukarmin 2007)

Tanaman sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) termasuk dalam satu famili dengan tanaman sirsak, yaitu *Annonaceae*. Sirsak gunung mempunyai bentuk buah hampir bulat atau lonjong. Kulit buah berwarna hijau tua waktu muda dan berubah menjadi kuning setelah tua dengan duri pendek yang lunak.

Daging buah berwarna kuning dan memiliki rasa kurang enak, tetapi aromanya harum yang khas dan mempunyai banyak biji bernas yang berwarna coklat muda (Morton dalam Sukarmin, 2012). Sukarmin (2009b) menyatakan presentase daya tumbuh sirsak gunung mencapai 97,6%, kecepatan tumbuh 2-3 minggu setelah semai dan daya petumbuhan yang vigor, tinggi tanaman pada umur 6 bulan mencapai 42,44 cm, dan mempunyai akar yang kuat sehingga cocok sebagai batang bawah.

2.3 Kajian tentang diare

2.3.1 Definisi diare

Diare merupakan suatu kondisi buang air besar tidak normal yaitu lebih dari 3 kali sehari dengan konsistensi tinja yang encer dengan atau tanpa disertai darah atau lendir akibat dari proses inflamasi pada lambung atau usus. Diare adalah suatu kondisi dimana seseorang buang air besar dengan konsistensi lembek atau cair, bahkan dapat berupa air saja dan frekuensinya lebih dari tiga kali dalam satu hari (Departemen Kesehatan RI, 2011).

Menurut Shanty (2011), yang dimaksud dengan diare berarti peningkatan frekuensi buang air besar atau penurunan kepadatan dalam bentuk tinja. Meskipun perubahan pada frekuensi buang air besar dan kelonggaran kepadatan dari kotoran dapat bervariasi secara independen satu sama lain, perubahan sering terjadi pada keduanya. Diare dapat juga didefinisikan secara absolute atau relative berdasarkan pada frekuensi buang air besar atau konsistensi (kepadatan) kotoran. Frekuensi buang air besar adalah indikasi mutlak. Ketika diare, penderita buang air besar lebih banyak dari biasanya. Jadi, karena di antara individu yang sehat jumlah

maksimum buang air besar setiap hari sekitar tiga kali, diare dapat didefinisikan sebagai buang air besar lebih dari tiga kali. Penderita diare dapat relatif mengalami buang air besar lebih dari biasanya. Jadi jika seseorang yang biasanya mengalami satu kali buang air besar setiap hari mulai mengalami dua buang air besar setiap hari, hal itu dapat dikatakan diare meskipun tidak buang air besar lebih dari tiga hari, yaitu tidak ada diare mutlak.

2.3.2 Klasifikasi diare

Inayah (2006) mengklasifikasi diare berdasarkan pada ada atau tidaknya infeksi menjadi 2 golongan :

1. Diare infeksi spesifik : tifus abdomen dan paratifus, desentri basil, eterokiliatis stafilokok.
2. Diare infeksi non spesifik : diare dietetic

Klasifikasi lain diare berdasarkan organ yang terkena infeksi :

1. Diare infeksi enteral atau diare karena infeksi di usus (bakteri, virus, parasit).
2. Diare infeksi parenteral atau diare infeksi di luar usus (otitis media, infeksi saluran pernafasan, infeksi saluran urin dan lainnya).

2.3.3 Penyebab diare

Secara klinis penyebab diare dapat dikelompokkan dalam 6 golongan besar yaitu infeksi (disebabkan oleh bakteri, virus atau infestasi parasit), malabsorpsi, alergi, keracunan, imunodefisiensi dan sebab-sebab lainnya. Penyebab yang sering ditemukan di lapangan ataupun secara klinis adalah diare yang disebabkan infeksi dan keracunan (Depkes RI, 2011).

Menurut Suharyono (2008), ditinjau dari sudut patofisiologi, penyebab diare dapat di golongkan menjadi dua golongan yaitu :

1. Diare sekresi (*secretory diarrhea*) disebabkan oleh:

a. Infeksi virus, kuman-kuman patogen dan apatogen seperti

- *Escherichia coli* Produksi enterotoksin oleh *E.coli* ditemukan sekitar tahun 1970 dari strain yang ada hubungannya dengan penyakit diare. Penelitian selanjutnya menerangkan strain-strain enterotoksigenik dari *E.coli* sebagai satu hal yang bersifat patogen pada penyakit diare manusia.

E. coli patogen adalah penyebab utama diare pada pelancong. Mekanisme patogen yang melalui enterotoksin dan invasi mukosa. Ada beberapa agen penting, yaitu:

- 1 *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC).
- 2 *Enteropathogenic E. coli* (EPEC).
- 3 *Enteroadherent E. coli* (EAEC).
- 4 *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC)
- 5 *Enteroinvasive E. Coli* (EIHEC)

Kebanyakan pasien dengan ETEC, EPEC, atau EAEC mengalami gejala ringan yang terdiri dari diare cair, mual, dan kejang abdomen. Diare berat jarang terjadi, dimana pasien melakukan BAB lima kali atau kurang dalam waktu 24 jam. Lamanya penyakit ini rata-rata 5 hari. Demam timbul pada kurang dari 1/3 pasien. Feses berlendir tetapi sangat jarang terdapat sel darah merah atau sel darah putih. Lekositosis sangat jarang terjadi. ETEC, EAEC, dan EPEC merupakan penyakit self limited, dengan tidak ada gejala sisa.

Pemeriksaan laboratorium tidak ada yang spesifik untuk *E coli*, lekosit feses jarang ditemui, kultur feses negatif dan tidak ada leukositosis. *EPEC* dan *EHEC* dapat diisolasi dari kultur, dan pemeriksaan *aglutinasi latex* khusus untuk *EHEC* tipe O157.

Terapi dengan memberikan rehidrasi yang adekuat. Antidiare dihindari pada penyakit yang parah. *ETEC* berespon baik terhadap trimetoprim-sulfametoksazole atau kuinolon yang diberikan selama 3 hari. Pemberian antimikroba belum diketahui akan mempersingkat penyakit pada diare *EPEC* dan diare *EAEC*. Antibiotik harus dihindari pada diare yang berhubungan dengan *EHEC*.

- *Salmonella* Beberapa spesies adalah ganas terhadap manusia, diantaranya *S.typhi*, *S.paratyphi*, *S.hirshfeldi*, *S.oranienburg*, *S.weltevreden*, *S.havana*, *S.javiana*. bakteri masuk tubuh manusia melalui makanan dan minuman yang tercemar tangan, tinja penderita atau pembawa kuman. Untuk menyebabkan diare pada orang sehat diperlukan inokulum yang besar.
- *Shigella* Terdapat empat kelompok spesies yang terdiri dari *S.dysenteriae*, *S.flexneri*, *S.boydii* dan *S.sonnei*; yang sering dijumpai di daerah tropis. *Shigella* adalah sangat ganas bagi manusia dan terkenal dapat menyebabkan disentri basil yang sifatnya sangat akut. Sepuluh sampai dua ratus *shigella* yang virulen cukup dapat mengakibatkan diare.
- *Vibrio cholera* Angka kejadian tinggi di Negara yang sedang berkembang karena belum baiknya higene, sanitasi serta penyediaan air

minum. Pada waktu wabah, terutama anak yang sudah besar dan orang dewasa diserang karena mobilitasnya yang lebih besar. Jarang menyerang anak dibawah 2 tahun.

- *Vibrio campylobacter* Kuman di temukan dalaminja selama penyakit berlangsung dan menghilang pada saat penyembuhan.

b. Difisiensi imunologi Dinding usus mempunyai mekanisme pertahanan yang baik. Bila terjadi difisiensi 'S.IgA' dapat terjadi bakteri tumbuh lama. Demikian pula defisiensi CMI '*cell mediated immunity*' dapat menyebabkan tubuh tidak mampu infeksi dan infestasi parasit dalam usus. Hal ini mengakibatkan bakteri, virus, parasit, dan jamur yang masuk dalam usus akan berkembang dengan baik sehingga bakteri tumbuh dan akibat lebih lanjut diare kronik dan malabsorsi makanan.

2. Diare osmotik (*Osmotic diarrhea*) disebabkan oleh:

- a. Malabsorsi makanan : Malabsorsi karbohidrat, lemak dan protein.
- b. Kurang kalori protein.
- c. Bayi berat badan lahir rendah dan bayi baru lahir.

Sedangkan menurut Inayah (2006), penyebab diare dapat dibagi beberapa faktor yaitu:

1. Factor infeksi

- a. Infeksi enteral Merupakan penyebab utama diare pada anak, yang meliputi: infeksi bakteri, infeksi firus (*Enteovirus, Poliomyelitis, Virua Echo Coxsackie, Adeno Virus, Rota Virus, Astrovirus*). Infeksi parasit: cacing (*Ascaris, Tricuris, Oxyuris, Strongxloides*), protozoa (*Etamoeba*

histolitica, Giardia lamblia, Trichomonas homunis), jamur (*Canida albicans*).

- b. Infeksi parenteral Adalah infeksi diluar alat pencernaan makanan seperti otitis media akut (OMA), tonsillitis/tonsilofaringitis, bronkopneumonia, ensefalitis. Keadaan ini terutama terjadi pada bayi dan anak berumur dibawah dua tahun.

2. Faktor malabsorpsi

Penyebab diare yang disebabkan karena malabsorpsi makanan dapat dikelompokkan menjadi 3 yaitu, malabsorpsi karbohidrat, lemak, dan protein. Malabsorpsi karbohidrat mengakibatkan beban osmotik (diare berair) lalu bakteri dalam kolon membentuk gas (abdomen kembung, tinja berbuih, flatus). Malabsorpsi lemak menyebabkan lemak dalam usus keluar berlebihan dalam tinja. Sedangkan malabsorpsi protein diakibatkan adanya gangguan pada pankreas dan mukosa usus halus.

3. Faktor makanan Makanan terlalu pedas dan makanan terlalu asam.

4. Faktor psikologis Bias terjadi karena Stress, cemas, ketakutan dan gugup.

2.3.4 Patofisiologi Diare

Diare dapat terjadi akibat lebih dari satu mekanisme. Pada infeksi bakteri paling tidak ada dua mekanisme yang bekerja peningkatan sekresi usus dan penurunan absorpsi di usus. Infeksi bakteri menyebabkan inflamasi dan mengeluarkan toksin yang menyebabkan terjadinya diare. Patofisiologi dari inflamasi diare terjadi karena organisme atau substansi yang merusak pembatas (*barrier*) mukosa disaluran pencernaan dengan cara melakukan invasi dan melepaskan sitotoksin kedalam lapisan lebih dalam sehingga menyebabkan

eksudasi dari sel inflamasi serta darah masuk ke dalam lumen. Sedangkan patofisiologi dari non inflamasi diare terdiri dari osmotik diare, terjadi karena adanya larutan yang tidak dapat diserap oleh saluran intestinal seperti laktosa. Laktosa dapat bertindak sebagai agen osmotik yang dapat menarik air ke lumen usus. Sekretori diare terjadi karena adanya aktivasi dari siklik adenosin monofosfat (karena adanya toksin dari *E.coli*, *Shigella* dan *Salmonella*) aktivasi dari siklik guanosin monofosfat dependen (karena adanya toksin dari *Clostridium*) yang dapat menstimulus klorida dari sel-sel kriptal dan menghambat *neutral coupled* absorpsi dan NaCl (Robert, 2007).

2.4 Defekasi

Salah satu aktivitas manusia yang tidak mungkin terlewatkan di dalam kehidupannya, baik pada anak maupun orang dewasa. Secara definisi, defekasi merupakan suatu proses evakuasi tinja dari dalam rektum, yaitu bahan yang tidak digunakan lagi dan harus dikeluarkan dari dalam tubuh.

Proses defekasi melibatkan berbagai organ seperti kolon desenden, sigmoid, rektum, sfingter ani internus dan eksternus, serta beberapa serabut saraf. Proses defekasi berawal dari adanya mass movement dari kolon desenden yang mendorong feses ke dalam rektum. Mass movement timbul lebih kurang 15 menit setelah makan dan hanya terjadi beberapa kali sehari.

Adanya tinja di dalam rektum menyebabkan peregangan rektum dan mendorong tinja ke arah sfingter ani. Keadaan ini menimbulkan rasa ingin berdefekasi yang selanjutnya terjadi defekasi. Proses defekasi dapat dicegah oleh kontraksi tonik dari sfingter ani internus dan eksternus. Sfingter ani internus

merupakan kumpulan otot polos sirkular yang terletak pada anus bagian proksimal, sedangkan sfingter ani eksternus terdiri dari otot lurik yang terletak pada bagian distal. Kerja kedua otot tersebut diatur oleh sistem saraf somatik.

Regangan pada rektum akan menimbulkan rangsangan pada serabut saraf sensoris rektum. Impuls tersebut akan dihantarkan ke segmen sakrum medula spinalis dan selanjutnya secara refleks melalui serabut saraf parasimpatis nervus erigentes akan dihantarkan ke kolon desenden, sigmoid, rektum dan anus. Isyarat serabut saraf parasimpatis ini berlangsung secara sinergis sehingga menyebabkan gerakan peristaltik usus yang kuat, mulai dari fleksura lienalis sampai ke anus, dan bermanfaat dalam pengosongan usus besar. Selain itu, impuls aferen pada medula spinalis juga menyebabkan refleks lain, seperti bernafas dalam, penutupan glotis, dan kontraksi otot abdomen (otot kuadratus, rektus abdominis, oblik eksternus dan internus). Refleks tersebut juga dapat mendorong feses yang berada di dalam usus ke arah distal.

Pada saat yang bersamaan dasar pelvis akan terdorong ke arah distal sehingga mempermudah pengeluaran feses. Pada anak besar, kontraksi sfingter ani eksternus dapat diatur sehingga proses defekasi dapat ditunda sampai keadaan yang memungkinkan. Proses tersebut akan menghilang setelah beberapa menit dan baru akan timbul kembali setelah ada masa feses tambahan yang masuk ke dalam rektum. Bila keadaan ini berlangsung berulang kali atau akibat sensasi yang menurun dapat menyebabkan rasa nyeri pada saat defekasi berlangsung yang pada akhirnya dapat menyebabkan gangguan defekasi seperti konstipasi.

2.5 Bakteri *Escherichia coli*

Klasifikasi *E. coli* adalah sebagai berikut:

- Kingdom : *Bacteria*
Filum : *Proteobacteria*
Kelas : *Gamma Proteobacteria*
Ordo : *Enterobacteriales*
Famili : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

E. coli berbentuk batang pendek (cocobasil), Gram negatif dengan ukuran 0,4 - 0,7 μm x 1,4 μm . Sebagian besar bersifat motil (bergerak) dan beberapa strain memiliki kapsul berderet seperti rantai, dapat memfermentasi glukosa dan laktosa membentuk asam dan gas. *E.coli* dapat memecah laktosa dengan cepat, juga dapat tumbuh pada media agar. Dapat merombak karbohidrat dan asam lemak menjadi asam dan gas serta dapat menghasilkan gas karbondioksida dan hidrogen (Pelczar dan Chan dalam Tambunan, 2016).



Gambar 2. 2 Struktur tubuh *Escherichia coli* (Sumber: Kunkel 2009)

Sebagian besar bakteri *E.coli* termasuk dalam galur non-patogenik sedangkan serotype *E.coli* yang patogen sekitar 10-15%. Cara penyerangan: dengan membentuk toksin (toksin yang tahan panas/ST, toksin tidak tahan panas/LT) dan kemampuan melekat pada usus halus. Pembentukan dua macam toksin ini diatur oleh plasmid. *E.coli* penghasil enterotoksin tidak memiliki kemampuan merusak, namun toksin ini diadsorpsi oleh sel epitel. Toksin LT yang tidak tahan panas merangsang adenilsiklase untuk mengubah ATP menjadi cAMP, sehingga mengeluarkan Cl⁻ dan menghambat Na⁺ yang menyebabkan cairan banyak dikeluarkan.

E. coli banyak ditemukan di dalam usus halus manusia sebagai flora normal, dengan jumlahnya dapat mencapai 10⁹ CFU/g. Bakteri ini dikenal sebagai mikroba indikator kontaminasi fekal, dan dibagi dalam dua kelompok yaitu : nonpatogenik dan patogenik tetapi bila kesehatan menurun, bakteri ini dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. *E. coli* umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru-paru, saluran empedu dan saluran otak (Jawetz *et al.* Dalam Tambunan 2016). Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit seperti diare, infeksi saluran kemih, pneumonia, meningitis pada bayi yang baru lahir dan infeksi luka (Karsinah *et al.* Dalam Tambunan, 2016)

E. coli juga dapat menyebabkan berbagai penyakit tergantung dari tempat infeksi, seperti infeksi saluran kemih (ISK) dan diare. Beberapa strain *E.coli* menyebabkan diare yaitu Enteropathogenic *E.coli* (EPEC), Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) merupakan penyebab umum diare pada musafir. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) dihubungkan dengan hemoragic colitis, Enteroinvasif *E. coli* (EIEC)

menyebabkan penyakit mirip shigellosis sedangkan *Enteroagregatif E. coli* (EAEC) menyebabkan diare yang akut dan kronis (Juliantina, 2009).

Koloni *E. coli* yang tumbuh pada EMB memiliki karakteristik hijau metalik serta memiliki titik hitam di bagian tengahnya, berbentuk bundar, cembung, halus dengan tepi yang nyata. Warna hijau metalik ini muncul sebagai akibat fermentasi kandungan laktosa dalam media EMB. Media EMB digunakan untuk mengisolasi bakteri Gram negatif. Pewarna eosin dalam media EMBA mampu merespon perubahan pH yang ditandai dengan bintik hitam dalam suasana asam. Media EMB mengandung laktosa dan sukrosa sebagai sumber energi. Fermentasi laktosa oleh bakteri penghasil asam seperti bakteri *E. coli* mampu menghasilkan warna hijau metalik pada suasana asam (Dewi, 2013).

2.6 Kajian tentang fermentasi

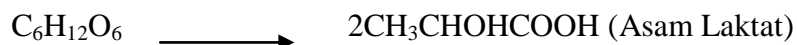
Fermentasi bahan pangan adalah sebagai hasil kegiatan beberapa jenis mikroorganisme baik bakteri, khamir, dan kapang. Mikroorganisme yang memfermentasi bahan pangan dapat menghasilkan perubahan yang menguntungkan (produk-produk fermentasi yang diinginkan) dan perubahan yang merugikan (kerusakan bahan pangan). Dari mikroorganisme yang memfermentasi bahan pangan, yang paling penting adalah bakteri pembentuk asam laktat, asam asetat, dan beberapa jenis khamir penghasil alkohol. (Suprihatin, 2010)

Secara biokimia, fermentasi didefinisikan sebagai suatu yang berhubungan dengan pembangkitan energi dengan proses katabolisme senyawa-senyawa organik, yang berfungsi sebagai donor elektron dan terminal elektron acceptor.

Senyawa organik tersebut diubah oleh reaksi-reaksi dengan katalis enzim menjadi bentuk lain (Riyadi, 2007).

Fermentasi diperkirakan menjadi cara untuk menghasilkan energi pada organisme purba sebelum oksigen berada pada konsentrasi tinggi di atmosfer seperti saat ini, sehingga fermentasi merupakan bentuk purba dari produksi energi sel. Produk fermentasi mengandung energi kimia yang tidak teroksidasi penuh tetapi tidak dapat mengalami metabolisme lebih jauh tanpa oksigen atau akseptor elektron lainnya (yang lebih highly-oxidized) sehingga cenderung dianggap produk sampah (buangan). Konsekwensinya adalah bahwa produksi ATP dari fermentasi menjadi kurang efisien dibandingkan oxidative phosphorylation, di mana piruvat teroksidasi penuh menjadi karbon dioksida. Fermentasi menghasilkan dua molekul ATP per molekul glukosa bila dibandingkan dengan 36 ATP yang dihasilkan respirasi aerobik (Ngili, 2009).

Proses fermentasi merupakan salah satu cara untuk memperpanjang waktu penyimpanan makanan dengan memanfaatkan mikroba (Pradani dkk,2009). Selain itu juga proses fermentasi dapat menyebabkan perubahan tekstur, cita rasa, dan aroma bahan pangan menjadikan produk lebih menarik, mudah dicerna dan memiliki nilai gizi (Gianti dan Evanuaini, 2011). Reaksi fermentasi yaitu :



Perubahan laktosa menjadi asam laktat karena adanya aktifitas enzim yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat serta senyawa yang terkandung dalam susu seperti albumin, kasein sitrat, dan fosfat. Bakteri yang berperan dalam perubahan laktosa menjadi asam laktat yaitu bakteri asam laktat (Prangdigmurti,2011).

Selama proses fermentasi berlangsung kultur dengan memanfaatkan laktosa sebagai sumber energi. yang mula – mula laktosa dihirolisis oleh enzim D-galaktosidase dalam sel bakteri menjadi glukosa dan galaktosa. Kemudian glukosa akan dimetabolisme oleh bakteri menjadi asam piruvat lalu di rubah dalam bentuk asam laktat.

2.7 Kajian tentang probiotik

Probiotik berasal dari kata *probios*, yang dalam ilmu biologi berarti untuk kehidupan. Probiotik adalah pangan mengandung mikroorganisme hidup yang secara aktif meningkatkan kesehatan dengan cara memperbaiki keseimbangan flora usus jika dikonsumsi dalam keadaan hidup dalam jumlah yang memadai. Probiotik adalah mikroba hidup yang sangat menguntungkan bagi sel inang karena dapat meningkatkan keseimbangan mikroflora usus. Seleksi mikroba khususnya bakteri asam laktat (BAL) sangat diperlukan untuk mendapatkan strain-strain probiotik yang unggul. Hal tersebut dikarenakan tidak semua BAL berpotensi sebagai probiotik (Fuller dalam Tambunan, 2016). Definisi lain probiotik menurut (Winarno dalam Tambunan,2016) adalah suatu preparat yang terdiri dari mikroba hidup yang dimasukkan ke dalam tubuh manusia atau ternak secara oral. Probiotik diharapkan mampu memberikan pengaruh positif terhadap kesehatan manusia atau ternak, dengan cara memperbaiki sifat-sifat yang dimiliki oleh mikroba alami yang tinggal di dalam saluran pencernaan makhluk hidup.

Salminen *et al.* Tambunan (2016) menyatakan bahwa terdapat beberapa kriteria yang harus dipenuhi oleh suatu probiotik, diantaranya adalah: (1) bersifat nonpatogenik dan mewakili mikrobiota normal pada usus inangnya, serta masih aktif pada kondisi asam lambung dan konsentrasi garam empedu yang tinggi

dalam usus halus, (2) dapat tumbuh dan bermetabolisme dengan cepat serta terdapat dalam jumlah yang tinggi dalam usus halus, (3) mampu mengkolonisasi beberapa bagian dari saluran usus inangnya, (4) dapat memproduksi asam-asam organik secara efisien dan memiliki sifat antimikroba terhadap bakteri patogen, (5) mudah diproduksi, mampu tumbuh dalam sistem produksi skala besar, dan hidup selama kondisi penyimpanan.

Probiotik telah banyak dimanfaatkan untuk penanggulangan penyakit gastroenteritis seperti diare. Arief et al. (2008) telah berhasil mengisolasi indigenus dari daging sapi yang berasal dari beberapa pasar tradisional di daerah bogor. Ke-10 BAL tersebut memiliki karakteristik sebagai bakteri probiotik dan menghasilkan senyawa anti mikroba yang menghambat pertumbuhan bakteri *Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC)*, *Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC)*, *staphylococcus aureus*, dan *Salmonella Typhimurium*.

Probiotik seringkali direkomendasikan oleh dokter, dan, lebih sering lagi, oleh ahli nutrisi, setelah pengonsumsi antibiotik, atau sebagai bagian dari pengobatan candidiasis. Banyak probiotik disediakan dalam sumber alaminya seperti *Lactobacillus* pada yoghurt dan sauerkraut. Beberapa mengklaim probiotik mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Noegroho, 2007). Usus manusia sebenarnya penuh dengan mikroorganisme, jumlahnya mencapai 400 macam. Mikroorganisme ini terdiri dari virus, jamur, parasit dan bakteri. Jumlahnya mencapai 100 triliun, lebih banyak dari jumlah manusia di dunia. Untungnya tidak semua mikroorganisme tersebut jahat bagi tubuh.

2.8 Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat merupakan kelompok besar mikroorganisme yang secara alami terdapat pada banyak bahan pangan serta saluran gastrointestinal dan urogenital manusia dan hewan. Kelompok bakteri ini mempunyai morfologi yang beragam atau heterogen dan memiliki bentuk batang pendek atau panjang, serta bulat (coccus), yang menjadi karakteristik fisiknya. Semua anggota *Lactobacteriaceae* adalah gram positif dan tidak membentuk spora dan umumnya non-motile. Selama pertumbuhannya, bakteri asam laktat dapat memproduksi komponen metabolit, seperti asam organik, hidrogen peroksida, bakteriosin, dan komponen lainnya. Bakteriosin merupakan suatu péptida antimikroba yang dihasilkan bakteri asam laktat selama fase pertumbuhan eksponensial yang dalam jumlah yang cukup, dapat membunuh atau menghambat bakteri lain yang berkompetisi dalam ekologi yang sama (Vasiljevic dan Shah 2008).

Tidak hanya dalam menjamin keamanan produk, dalam fermentasi, bakteri asam laktat berperan dalam membentuk tekstur, flavor dan aroma. Selama fermentasi, nilai nutrisi pangan meningkat dengan terjadinya hidrolisis komponen pangan menjadi produk yang lebih mudah dicerna dan destruksi faktor-faktor antinutrisi. Sifat-sifat yang menguntungkan bagi kesehatan atau sifat fungsional juga telah dilaporkan pada bakteri-bakteri asam laktat yang diisolasi dari produk pangan, seperti mempersingkat durasi diare, memperbaiki metabolisme laktosa, menurunkan kolesterol, menurunkan risiko mutagenisitas dan karsinogenik, mengobati intoleransi laktosa, dan menstimulasi sistem imun (Reid *et al.* 2006; Vassiljevic dan Shah, 2008; Tamang *et al.* 2009; Lee *et al.* 2011, Saad *et al.* 2013).

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri Gram positif berbentuk kokus atau batang, tidak membentuk spora, suhu optimum $\pm 40^{\circ}\text{C}$, pada umumnya tidak motil, bersifat anaerob, katalase negatif dan oksidase positif, dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. Sifat-sifat khusus bakteri asam laktat adalah mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, mampu memfermentasikan monosakarida dan disakarida (Syahrurahman dalam Tambunan, 2016). Sebagian besar BAL dapat tumbuh sama baiknya di lingkungan yang memiliki dan tidak memiliki O_2 (tidak sensitif terhadap O_2), sehingga termasuk anaerob aerotoleran. Bakteri yang tergolong dalam BAL memiliki beberapa karakteristik tertentu yang meliputi: tidak memiliki porfirin dan sitokrom, katalase negatif, tidak melakukan fosforilasi transpor elektron, dan hanya mendapatkan energi dari fosforilasi substrat. Hampir semua BAL hanya memperoleh energi dari metabolisme gula sehingga habitat pertumbuhannya hanya terbatas pada lingkungan yang menyediakan cukup gula atau bisa disebut dengan lingkungan yang kaya nutrisi. Kemampuan mereka untuk menghasilkan senyawa (biosintesis) juga terbatas dan kebutuhan nutrisi kompleks BAL meliputi asam amino, vitamin, purin, dan pirimidin (Anonim, 2010).

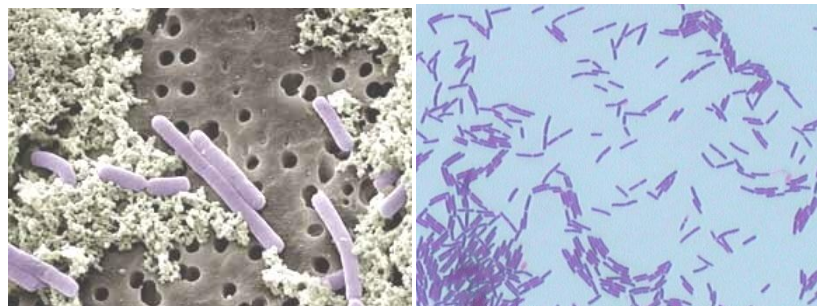
Jenis bakteri asam laktat (BAL) berpengaruh terhadap karakteristik sensori produk, khususnya minuman probiotik. Jenis BAL yang biasa digunakan sebagai kultur fungsional minuman probiotik antara lain beberapa spesies dari *Lactobacillus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Leuconostoc sp.*, dan *Pediococcus sp.* *Lactobacillus acidophilus* termasuk BAL homofermentatif yang dapat tumbuh dengan baik pada media selain susu (Jay dalam Tambunan, 2016) dan dapat memperbaiki keseimbangan mikroflora dalam usus (Nizori dalam tambunan

2016). *Lactobacillus casei* juga mampu memproduksi senyawa-senyawa inhibitor (asam laktat, asam asetat), H₂O₂, serta bakteriosin yang dapat menekan pertumbuhan dan membunuh bakteri patogen dalam usus (Evanikastri dalam Tambunan 2016). *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* juga merupakan BAL yang bersifat termodurik, selektif dan homofermentatif (Wibowotomo dalam Tambunan, 2016). Menurut Fardiaz *et al.* Dalam Tambunan, (2016) wortel yang difermentasi baik oleh kultur campuran *S. thermophylus* dan *L. Bulgaricus* dan *L. casei* dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella*, *Shigella*, *V. cholerae*, dan *V. parahaemolyticus*.

2.9 *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei starter pada produk minuman fermentasi laktat termasuk jenis bakteri asam laktat homofermentatif, yaitu bakteri yang memfermentasi glukosa rnenjadi asam laktat dalam jumlah yang besar (90%). Selain asam laktat yang dihasilkan, ia juga menghasilkan asam sitrat, malat, suksinat, asetaldehid, diasetil dan asetoin dalam jumlah yang kecil, yang mempengaruhi cita rasa minuman fermentasi laktat (Speck dalam tambunan, 2016). Bentuk penampakan bakteri *Lactobacillus casei* dapat dilihat pada Gambar

2.3



Gambar 2. 3 *Lactobacillus casei*(Noegroho, 2007).

Berdasarkan morfologinya, *Lactobacillus casei* berbentuk batang pendek dalam koloni tunggal maupun berantai dengan ukuran panjang 1,5 - 5,0 mm dan lebar 0,6 - 0,7 mm. Bakteri ini bersifat Gram positif, katalase negatif, tidak membentuk endospora maupun kapsul, tidak mempunyai flagela dan tumbuh dengan baik pada kondisi anaerob fakultatif. Berdasarkan suhu pertumbuhannya, bakteri ini termasuk bakteri mesofil yang dapat hidup pada suhu 15 - 41°C dan pada pH 3,5 atau lebih, sedangkan kondisi optimum pertumbuhannya adalah pada suhu 37°C dan pH 6,8 (Mutai dalam tambunan, 2016). *Lactobacillus casei* biasanya diisolasi dari produk susu dan lumen usus manusia (Robinson dalam tambunan, 2016). Bakteri *Lactobacillus casei* terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri bakteri patogen penyebab infeksi saluran pencernaan seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *V. cholerae*, dan *V. parahaemolyticus* (Fardiaz *et al.* Dalam Tambunan, 2016).

Lactobacillus casei merupakan penghuni natural dari usus halus manusia dan resistan terhadap cairan empedu. Spesies ini umumnya digunakan sebagai probiotik meskipun digunakan juga pada beberapa kultur starter sebagai non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) pada keju Cheddar. L-laktat adalah isomer utama yang diproduksi oleh jenis ini, meskipun beberapa strain juga memproduksi D-laktat dalam jumlah kecil. Rogosa agar telah secara luas digunakan sebagai medium isolat untuk *lactobacilli* (Noegroho, 2007).

2.10 Kajian tentang hewan uji mencit

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan yang termasuk dalam famili *Muridae* (Anonim dalam Muliani, 2011). *Mus musculus* liar atau *Mus*

musculusrumah adalah hewan satu spesies dengan *Mus musculuslaboratorium*. Semua galur *Mus musculus* laboratorium sekarang ini merupakan keturunan dari *Mus musculus* liar sesudah melalui peternakan selektif (Smith & Mangkoewidjojo dalam muliani, 2011).

Mus musculus akan lebih aktif pada senja atau malam hari, mereka tidak menyukai terang. Mereka juga hidup ditempat tersembunyi yang dekat dari sumber makanan dan membangun sarangnya dari bermacam-macam material lunak. *Mus musculus* adalah hewan terrestrial dan satu jantan yang dominan biasanya hidup dengan beberapa betina dan *Mus musculus* muda. Jika dua atau lebih *Mus musculus* jantan dalam satu kandang mereka akan menjadi agresif jika tidak dibesarkan bersama sejak lahir (Anonim dalam Muliani, 2011)

Mencit merupakan hewan yang paling umum digunakan pada penelitian laboratorium sebagai hewan percobaan, yaitu sekitar 40-80%. Mencit memiliki banyak keunggulan sebagai hewan percobaan, yaitu siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganannya (Moriwak dalam susanti, 2013).

Mencit (*Mus musculus*) dan tikus (*Ratus norvegicus*) merupakan omnivora alami, sehat, dan kuat, profilik, kecil, dan jinak. Selain itu, hewan ini juga mudah didapat dengan harga yang relatif murah dan biaya ransum yang rendah (Peter dalam susanti, 2013).

Mencit putih memiliki bulu pendek halus berwarna putih serta ekor berwarna kemerahan dengan ukuran lebih panjang dari pada badan dan kepala. Mencit memiliki warna bulu yang berbeda disebabkan perbedaan dalam proporsi

darah mencit liar dan memiliki kelenturan pada sifat-sifat produksi dan reproduksinya (Nafiu dalam susanti, 2013).

Mencit memiliki taksonomi sebagai berikut (Arrington dalam susanti, 2013):

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mamalia
Ordo : Rotentia
Famili : Muridae
Genus : Mus
Spesies : *Mus musculus*

Mencit harus diberikan makan dengan kualitas tetap karena perubahan kualitas dapat menyebabkan penurunan berat badan dan tenaga. Seekor mencit dewasa dapat mengkonsumsi pakan 3-5 gram setiap hari. Mencit yang bunting dan menyusui memerlukan pakan yang lebih banyak. Jenis ransum yang dapat diberikan untuk mencit adalah ransum ayam komersial (Smith dalam susanti, 2013).

Kandungan protein ransum yang diberikan minimal 16%. Kebutuhan zat makanan yang diperlukan untuk pemeliharaan mencit adalah protein kasar 20-25%, kadar lemak 10-12%, kadar pati 44-55%, kadar serat kasar maksimal 4% dan kadar abu 5-6% (Smith dalam susanti, 2013).

Air minum yang diperlukan oleh setiap ekor mencit untuk sehari berkisar antara 4-8ml. Seekor mencit mudah sekali kehilangan air sebab evaporasi tubuhnya tinggi. Konsumsi air minum yang cukup akan digunakan untuk menjadi

stabilitas suhu tubuh dan untuk melumasi pakan yang dicerna. Air minum juga dibutuhkan untuk menekan stress pada mencit yang dapat memicu kanibalisme (Malole & Pramono dalam susanti, 2013).

Hewan percobaan yang dipelihara untuk tujuan penelitian, umumnya berada dalam suatu lingkungan yang sempit dan terawasi. Walaupun kehidupannya diawasi, namun diusahakan agar proses fisiologis dan reproduksi termasuk makan, minum, bergerak dan istirahat tidak terganggu. Hewan percobaan ditempatkan dalam kandang-kandang yang disusun pada rak-rak didalam suatu ruangan khusus. Kandang harus dirancang untuk dapat memberikan kenyamanan dan kesejahteraan bagi hewan tersebut (Anggorodi dalam susanti, 2013). Mencit-mencit yang dipergunakan untuk penelitian yang lama ditempatkan dalam kandang yang berukuran 22,5 cm X 10 cm untuk tiga ekor mencit (Peter dalam susanti, 2013).

Rute penggunaan obat dengan cara (Anief dalam susanti, 2013):

1. Melalui rute oral
2. Melalui rute parenteral
3. Melalui rute inhalasi
4. Melalui rute membran mukosa seperti mata, hidung, telinga, vagina, dsb
5. Melalui rute kulit
6. Melalui rute intra muscular

Salah satu persyaratan atau kriteria agar mencit dapat digunakan untuk uji farmakologi adalah sehat. Mencit dikatan sehat apabila:

1. Selama masa adaptasi lingkungan satu minggu maka bobot badan mencit tidak boleh kurang 10 %.

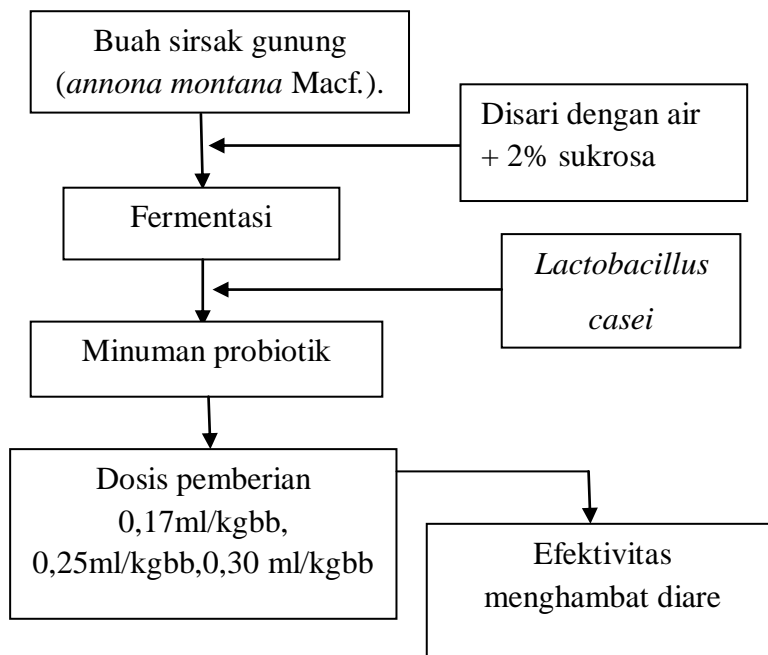
2. Bulu mencit tampak bersih, halus dan mengkilap
3. Bola mata tampak kemerahan dan jernih, hidung dan mulut tidak berendir atau mengeluarkan air liur terus menerus
4. Konsistensi fesesnya normal dan padat, tidak cair atau diare
5. Hewan tampak aktif dan selalu bergerak

2.11 Kerangka teori

Diare merupakan penyakit menular yang sebagian besar disebabkan oleh bakteri patogen yang tertular dari beberapa media seperti makanan, udara dan lingkungan. Untuk pengobatan diare bisa dilakukan dengan mengonsumsi minuman probiotik. Minuman probiotik adalah pangan mengandung mikroorganisme hidup yang secara aktif meningkatkan kesehatan dengan cara memperbaiki keseimbangan flora usus jika dikonsumsi dalam keadaan hidup dalam jumlah yang memadai. Pada pembuatannya menggunakan metode fermentasi dengan penguraian bahan – bahan karbohidrat yang terjadi karena adanya aktifitas mikroba pada substrat yang sesuai. Pada penelitian buah yang digunakan ialah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) yang kurang pemanfaatannya sebagai bahan pangan dan juga digunakan sebagai inovasi selain fermentasi dari olahan susu. Dilihat dari kandungan karbohidrat yang tinggi dalam sirsak putih sehingga diperkirakan dalam sirsak gunung juga mengandung karbohidrat yang terbukti dari rasa yang manis. Potensi inilah yang menjadi alasan pemilihan sirsak gunung sebagai bahan baku karena didalam karbohidrat terdapat kandungan glukosa yang digunakan sebagai tempat pertumbuhan mikroorganisme yang diperlukan dalam proses fermentasi. Sirsak gunung (*Annona montana*

Macf.) diolah menjadi minuman fermentasi dengan penambahan starter bakteri *Lactobacillus casei*. *Lactobacillus casei* pada produk minuman fermentasi laktat termasuk jenis bakteri asam laktat homofermentatif, yaitu bakteri yang memfermentasi glukosa menjadi asam laktat dalam jumlah yang besar (90%). Mekanisme kerja probiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam mukosa usus yaitu dengan cara kompetisi untuk mendapatkan perlekatan dengan enterosit. Sehingga dengan adanya bakteri probiotik didalam mukosa usus dapat mencegah kolonisasi bakteri patogen. Kemampuan adhesi bakteri probiotik dapat mengurangi atau menghambat adhesi bakteri jahat pada usus misalnya E. Coli. Untuk mengetahui efektivitasnya dalam menghambat bakteri penyebab diare, minuman probiotik diujikan pada hewan uji mencit dengan pemberian dosis yang berbeda antara 0,17 ml/ kgbb, 0,25 ml/ kgbb, 0,30 ml/ kgbb.

2.12 Kerangka konsep



2.13 Hipotesis

Dosis minuman probiotik hasil fermentasi sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) antara 0,17 ml/ kgbb, 0,25 ml/ kgbb, 0,30 ml/ kgbb mempunyai efek sebagai antidiare pada mencit jika,

Sig < 0,05 = maka H_1 diterima

Sig > 0,05 = maka H_0 ditolak

Uji statistik *One way anova* (diameter rembesan feses dalam kertas saring)

H_1 = terdapat perbedaan signifikan antara semua perlakuan terhadap diameter rembesan feses pada kertas saring

H_0 = tidak terdapat perbedaan signifikan antara semua perlakuan terhadap diameter rembesan feses pada kertas saring.

Uji statistik *One way anova* (frekuensi defekasi)

H_1 = terdapat perbedaan signifikan antara semua perlakuan terhadap frekuensi defekasi

H_0 = tidak terdapat perbedaan signifikan antara semua perlakuan terhadap frekuensi defekasi.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian minuman probiotik dari fermentasi sirsak gunung (*annona montana* Macf.) sebagai antidiare dengan pemberian dosis secara oral pada mencit yang diinduksi bakteri *Escherecia coli*. Pengamatan dilakukan terhadap 5 kelompok masing-masing 5 ekor hewan uji dengan dosis 0,17 ml/kgbb, 0,25 ml/ kgbb, 0,30 ml/kgbb.

Tahap penelitian meliputi tiga tahap kerja, yaitu:

Tahap persiapan yang meliputi persiapan alat, bahan, dan menyiapkan sampel yang akan digunakan untuk pengujian yaitu minuman probiotik hasil dari fermentasi buah sirsak gunung (*annona montana* Macf.).

Tahap pelaksanaan dengan melakukan pegujian keefektifan minuman probiotik sebagai antidiare pada mencit jantan yang diinfeksi bakteri *Escherecia coli* dengan melihat frekuensi diare yang terjadi .

Tahap akhir peneitian dengan melakukan pengolahan dan analisis data serta membuat kesimpulan dan hasil penelitian. Dengan adanya rancangan penelitian yang baik, maka pelaksanaan diharapkan bisa berjalan sesuai dengan keinginan peneliti.

3.2 Populasi dan sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah minuman probiotik dari sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) sedangkan sampel dalam penelitian ini adalah minuman probiotik dengan dosis 0,17ml/kgbb, 0,25ml/kgbb, 0,30ml/kgbb minuman probiotik yang diinduksikan pada mencit.

3.3 Lokasi dan waktu penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Sedangkan waktu mulai penyusunan proposal bulan Nopember 2016 sampai terelesainya Karya Tulis Ilmiah pada bulan Juli 2017.

3.4 Definisi Operasional Variabel

Definisi Operasional Variabel dalam penelitian ini terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas penelitian ini adalah dosis minuman probiotik dari fermentasi buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.). Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah efek antidiare minuman probiotik yang diinduksikan pada mencit.

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Sub Variabel	Definisi operasional	Hasil ukur	Skala
Dosis probiotik		jumlah probiotik yang diberikan pada mencit	Dosis 0,17ml /kg bb Dosis 0,25ml /kgbb Dosis 0,30ml /kgbb	Nominal
Efek antidiare	Konsistensi feses	Karakteristik feses yang dilihat dari bentuk dan diameter feses	0= tidak BAB 1 = feses keras(K) dengan diameter rembesan pada kertas saring <0,5cm 2= feses lembek (L) dengan diameter rembesan pada kertas saring 0,5-1 cm 3 = feses lembek cair (LC) dengan diameter rembesan pada kertas saring >1	Nominal
	Frekuensi defekasi	Jumlah atau banyaknya proses buang air besar yang dihitung selama 1 jam		Nominal

3.5 Instrumen penelitian

Pelaksanaan penelitian ini membutuhkan alat dan bahan. Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan glass, oven, autoklaf, inkubator, sonde, timbangan kasar, timbangan analitik, kertas saring.

Adapun bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah mencit umur 5-6 minggu, suspensi *Escherecia coli*, NaCl, glukosa, contrimoksazole minuman probiotik hasil fermentasi buah sirsak gunung, alkohol 70 %, aquades.

3.6 Pengumpulan data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.6.1 Pembuatan Sari Buah *Annona montana* Macf.

1. Dikumpulkan buah sirsak gunung yang telah berwarna kuning dan tampilan fisik baik.
2. Dibersihkan dari kotoran pada bagian luar buah sirsak kuning.
3. Dicuci buah hingga bersih dan kupas kulitnya.
4. Ditimbang sebanyak 1kg buah segar.
5. Dimasukan dalam blender dan ditambahkan air sebanyak 1 L.
6. Dipisahkan antara sari menggunakan kain saring dan biji dipisahkan dari ampas dan biji buah di buang.

3.6.2 Fermentasi Minuman Probiotik sari buah *Annona montana* Macf

1. Disiapkan sari buah sisak gunung.
2. Dimasukkan dalam dalam panci kemudian dilakukan proses pasteurisasi dengan suhu 72⁰Cselama 15 menit
3. Dimasukan starin bakteri *Lactobacillus casei*dengan perbandingan

- a. I = 1 : 30, 500 mL sari buah sirsak ditambah 30 ml strain bakteri *Lactobacillus casei*.
 - b. II = 1 : 60 500 mL sari buah sirsak ditambah 60 ml strain bakteri *Lactobacillus casei*
 - c. III = 1: 90, 500 mL sari buah sirsak ditambah 90 ml strain bakteri *Lactobacillus casei*
4. Diinkubasi pada suhu 37⁰C dengan dalam inkubator secara anaerob selama 24 jam.

3.6.3 Persiapan suspensi bakteri

- 1 Satu ose biakan bakteri *E.coli* yang telah diremajakan pada media NA disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 ml media EMB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C.
- 2 Suspensi bakteri tersebut diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril
- 3 Spektrofotometer disiapkan dengan setting panjang gelombang 600 nm
- 4 Blanko dan Sampel kultur (biakan cair) disiapkan masing-masing sebanyak 2 mL ke dalam kuvet steril hingga mencapai nilai %T 25
- 5 Hasil suspensi bakteri disondekan ke mencit sebanyak 0,20 mL/20 gram

3.6.4 Persiapan dan pemilihan hewan uji

Adapun jumlah keseluruhan hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 ekor. Dimana 25 ekor mencit putih tersebut dibagi dalam 5 kelompok uji, yang masing- masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit.

Perhitungan besar sampel dihitung dengan rumus federers Dekker (1991) sebagai berikut:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 = 5$$

keterangan :

t = jumlah kelompok uji

n = besar sampel per kelompok

3.6.5 Uji efektivitas antidiare minuman probiotik buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.)

1. Mencit diadaptasikan dengan lingkungan selama 1 minggu dengan diberikan ransum sesuai dengan tabel.

Tabel 3. 2 Komposisi Ransum Aklimatisasi

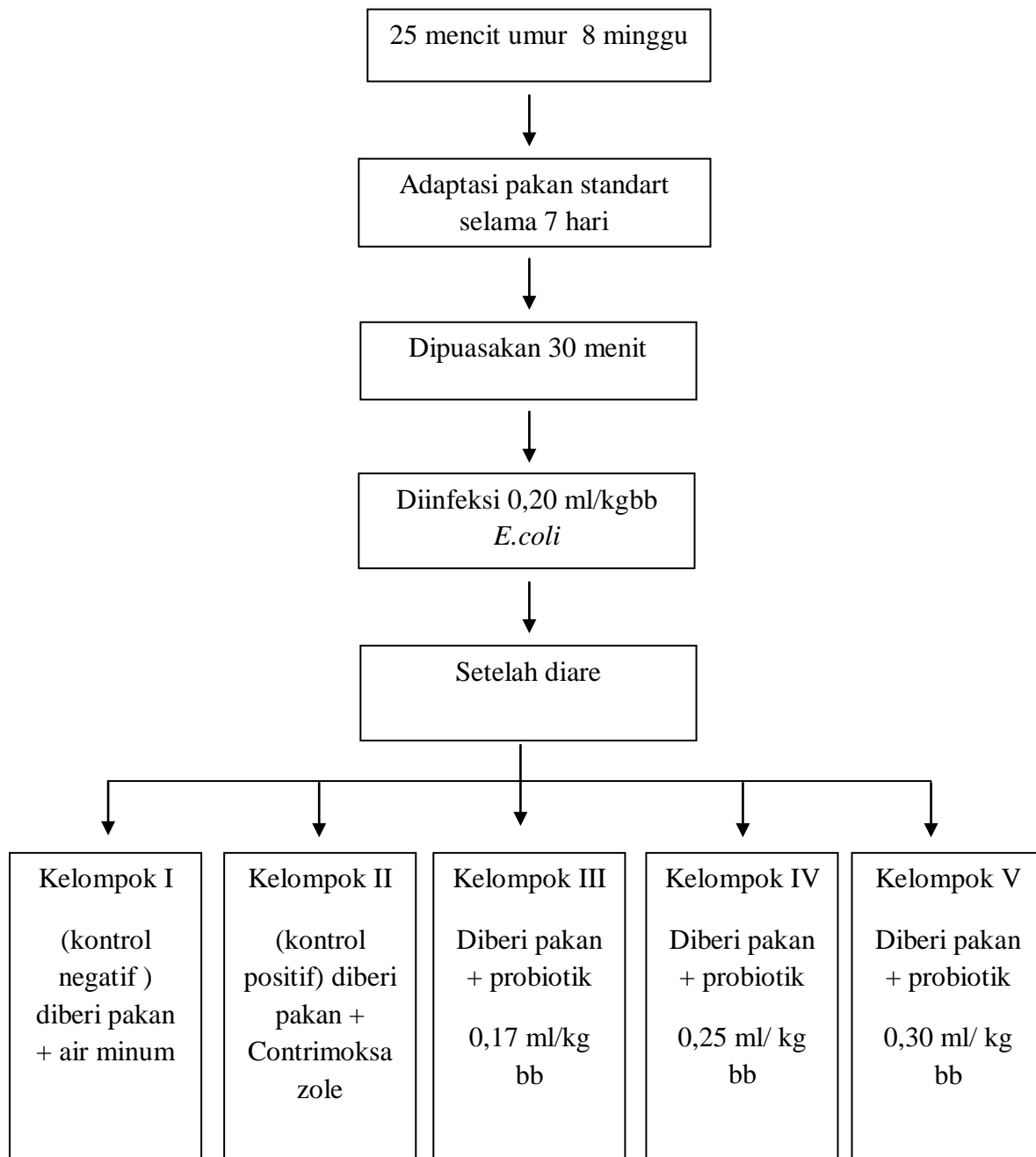
Ransum	Kontrol negatif	Kelompok I	Kelompok II	Kelompok III	Kontrol positif
Conffed PAR-S (gr)	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
Tepung terigu (gr)	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
Air (ml)	20	20	20	20	20

- 1 Tiga puluh menit sebelum penelitian, mencit dipuasakan, selanjutnya 25 mencit dikelompokkan menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit.
- 2 Semua mencit diinfeksi *E.coli* yang diberikan dengan populasi 10^8 cfu/ml sebanyak 0,20 ml secara oral menggunakan sonde.
- 3 Setelah diare , masing-masing kelompok diberi perlakuan, yaitu:

Tabel 3. 3 perlakuan pengujian antidiare

Kelompok	Perlakuan
Kontrol positif	Diberi Contrimoxazole 0,5 ml
Kontrol negatif	Diberi air minum
Kelompok perlakuan ke-I	Probiotik dosis 0,17 ml /kgbb
Kelompok perlakuan ke-II	Probiotik dosis 0,25 ml /kgbb
Kelompok perlakuan ke-III	Probiotik dosis 0,30 ml /kgbb

- Pengamatan dilakukan sejak mencit diberi suspensi *E.coli* hingga mencit mengalami diare, kemudian pengamatan dilanjutkan setelah mencit dari tiap kelompok mendapat perlakuan sesuai dengan kelompok perlakuan.



Gambar 3. 1 bagan alur penelitian

3.7 Analisis data

Dalam penelitian ini analisis data dilakukan dengan cara mengukur keefektifan antidiare pada minuman probiotik dari fermentasi sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) apakah terdapat perbedaan signifikan antara dosis 0,17 ml/kg bb, 0,25 ml/kg bb, 0,30 ml/kg bb. Data yang diperoleh diolah dan dianalisa dengan menggunakan sistem komputerisasi dengan program SPSS. Untuk mengetahui perbedaan terhadap perlakuan yang diberikan dilakukan uji statistic *One way anova*, jika ada perbedaan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc tukey* untuk mengetahui perbedaan dari tiap kelompok perlakuan. Masing-masing uji statistik dengan tingkat kepercayaan 95%.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil pengamatan mulai dari pembuatan minuman probiotik dari fermentasi buah sirsak gunung dengan penambahan starter *Lactobacillus casei* pada konsentrasi dosis yang berbeda (30ml, 60ml, 90ml), didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 4.1 Karakteristik Hasil Fermentasi

Sediaan	Fisik	Warna	Rasa	Aroma
Sari	Cair	Kuning	Hambar	Khas sirsak
Sari + starter 30ml	Cair	Kuning	Asam – sedikit manis	Khas sirsak
Sari + starter 60ml	Cair	Kuning pucat	Asam – manis	Khas sirsak
Sari + starter 90ml	Cair	Kuning pucat	Manis	Khas sirsak

Minuman probiotik yang dihasilkan berbentuk cair, berwarna kuning pucat dengan rasa manis dan beraroma khas sirsak. Minuman probiotik dengan konsentrasi sari + starter 90ml ini yang kemudian diteliti untuk diketahui keefektivannya dalam menghambat diare.

Berdasarkan hasil penelitian diameter rembesan feses pada kertas saring yang diamati dengan mencatat hasil rata-rata dari kelima hewan uji sebelum dan sesudah perlakuan, didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 4.2 Rata- rata diameter rembesan feses pada kertas saring

Kelompok	Rata- rata diameter rembesan feses pada kertas saring	
	Sebelum perlakuan	Setelah perlakuan
I kontrol (-)	1,2cm	0,8cm
II Kontrol (+)	1,3cm	0,3cm
III (Dosis 0,17 ml / kgbb)	1,2cm	0,3cm
IV (Dosis 0,25 ml / kgbb)	1,3cm	0,3cm
V (Dosis 0,30 ml / kgbb)	1,3cm	0,1cm

Berdasarkan hasil penelitian frekuensi defekasi yang diamati dengan mencatat hasil rata-rata dari kelima hewan uji sebelum dan sesudah perlakuan, didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 4.3 Rata- rata frekuensi defekasi

Kelompok	Rata- rata frekuensi defekasi	
	Sebelum perlakuan	Setelah perlakuan
I kontrol (-)	7 kali	6 kali
II Kontrol (+)	7 kali	3 kali
III (Dosis 0,17 ml / kgbb)	7 kali	3 kali
IV (Dosis 0,25 ml / kgbb)	7 kali	3 kali
V (Dosis 0,30 ml / kgbb)	7 kali	2 kali

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini tahap awal dilakukan proses pembuatan minuman probiotik dari pengolahan sari buah sirsak gunung dengan metode fermentasi. Dalam proses fermentasi sari buah sirsak gunung di tambahkan starter bakteri *Lactobacillus casei* dengan perbandingan yang berbeda yaitu 30ml/500ml, 60ml/500ml dan 90ml/500ml. *Lactobacillus casei* pada produk minuman

fermentasi laktat termasuk jenis bakteri asam laktat homofermentatif, yaitu bakteri yang memfermentasi glukosa menjadi asam laktat dalam jumlah yang besar (90%). *Lactobacillus casei* juga mampu memproduksi senyawa-senyawa inhibitor (asam laktat, asam asetat), H_2O_2 , serta bakteriosin yang dapat menekan pertumbuhan dan membunuh bakteri patogen dalam usus (Evanikastri dalam Tambunan 2016).

Standar yang dikembangkan oleh Fermented Milks and Lactic Acid Bacteria Beverages Association menetapkan bahwa produk yang mengandung 3×10^7 bifidobacteria/g atau per mL dipertimbangkan sebagai makanan probiotik (a probiotic food). Untuk menunjukkan klaim keuntungan bagi nutrisi dan kesehatan yang dimiliki bakteri probiotik harus viabel dan berada dalam jumlah yang tinggi pada saat dikonsumsi. Selanjutnya mereka harus tetap hidup di bagian akhir saluran gastrointestinal. Untuk alasan tersebut produk atau probiotik adjunct (pembawa probiotik) harus mengandung tidak kurang 10^6 CFU/ml bakteri probiotik pada saat dikonsumsi (Blanchette *et al.*, 1996). Syarat probiotik untuk mampu menimbulkan efek menyehatkan bagi intestinal dan menghambat bakteri patogen adalah minimal 10^6 cfu/mL (Nopriadi, 2015). BAL dalam minuman probiotik harus tahan terhadap pengolahan, tahan terhadap garam empedu, mampu melewati asam lambung dengan pH berkisar 3-5, dan mampu bertahan hidup didalam saluran pencernaan sehingga dapat memberikan efek kesehatan yang baik bagi tubuh (Retnowati, 2014). Minuman probiotik yang dihasilkan memiliki berbentuk cair, berwarna kuning pucat dengan rasa manis dan beraroma khas sirsak, pH 4 dan total BAL 10^7 Cfu/ml yang memenuhi persyaratan dosis minimum pada minuman probiotik.

Minuman probiotik yang dihasilkan selanjutnya dilakukan pengujian anti diare pada mencit yang terinfeksi bakteri *Escherichia coli*. Suspensi bakteri *Escherichia coli* yang digunakan untuk menginfeksi diukur menggunakan alat spektrofotometri dengan panjang gelombang 600nm hingga mencapai %T 25 (Sutton, 2011). Hasil suspensi bakteri tersebut setara dengan 10^8 CFU/ml yang tujuannya untuk menentukan kadar bakteri yang dapat menginfeksi hewan uji. Contrimoksazole digunakan sebagai kontrol positif karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen penyebab diare seperti *Escherichia coli*, dan air digunakan sebagai kontrol negatif. Dosis minuman probiotik yaitu 0,17 ml/kgbb, 0,25 ml/kgbb, 0,30 ml/kg bb, semua dosis diberikan secara per oral.

Mencit diadaptasi dengan lingkungan selama 1 minggu dengan diberikan pakan standart. Tujuan dari adaptasi agar mencit bebas dari ketakutan, dan stress jangka panjang (Ridwan, 2013). Tiga puluh menit sebelum penelitian, mencit dipuaskan terlebih dahulu. Kemudian masing- masing mencit diberikan suspensi bakteri *Escherichia coli* sebanyak 0,20 ml/ ekor yang merujuk pada penelitian Dewi (2013). Dari hasil pengamatan diameter rembesan feses pada kertas saring dapat dilihat pada tabel 4.2 diatas, mencit yang diberi perlakuan dengan menginfeksi bakteri *Escherichia coli* memiliki diameter rembesan feses pada kertas saring lebih dari 1 cm, hal ini dikarenakan bakteri *E.coli* melakukan penyerangan dengan membentuk toksin (toksin yang tahan panas, toksin tidak tahan panas) dan kemampuan melekat pada usus halus. Pembentukan dua macam toksin ini diatur oleh plasmid. *Escherichia coli* penghasil enterotoksin tidak memiliki kemampuan merusak, namun toksin ini diadsorbsi oleh sel epitel. Toksin yang tidak tahan panas merangsang adenilsiklase untuk mengubah ATP menjadi cAMP, sehingga

mengeluarkan Cl^- dan menghambat Na^+ yang menyebabkan cairan banyak dikeluarkan (Kunkel,2009). Setelah diare mencit diberi minuman probiotik dan didapatkan hasil diameter rembesan feses pada kertas saring kurang dari 1 cm dan warna feses saat diare berwarna kecoklatan sedangkan setelah diberi minuman probiotik berwarna hitam. Analisis data terhadap diameter rembesan feses pada kertas saring dilakukan dengan uji *One way anova*, didapatkan nilai Sig ($p=0,000$) maka H_1 diterima, jadi terdapat perbedaan signifikan antara semua perlakuan terhadap diameter rembesan feses pada kertas saring. Untuk mengetahui perakuan pemberian dosis yang paling efektif dilakukan uji *post hoc* (Lampiran 7) dan sebagai pembanding digunakan kontrol positif, didapatkan hasil uji bahwa dosis 3 memiliki nilai sig ($p=0,037$) yaitu nilai sig $< 0,05$ jadi terdapat perbedaan signifikan dosis 3 terhadap kontrol positif, sedangkan dosis 1 dan 2 nilai sig $> 0,05$ jadi tidak terdapat perbedaan signifikan dosis 3 terhadap kontrol positif. Sehingga dapat disimpulkan bahwa dosis efektif minuman probiotik dalam mengatasi diare adalah dosis 0,30ml/kgbb.

Menurut Nopriadi 2015, diketahui bahwa beberapa strain probiotik memiliki aktivitas bakterisidal terhadap bakteri patogen termasuk EPEC, dengan cara meningkatkan status imun inang yang mengonsumsinya (sebagai imunomodulator). Oleh sebab itu, dengan penambahan bakteri asam laktat probiotik lokal diharapkan status hematologi hewan uji bisa bertahan, bahkan bisa ditingkatkan. Bakteri probiotik dan obat apa pun yang diberikan secara oral akan diangkut oleh darah ke organ targetnya. Darah berfungsi mendistribusikan nutrisi, oksigen serta zat-zat lain ke semua organ, sehingga memungkinkan organ tubuh melakukan fungsinya. Fungsi darah dapat

terganggu bila parameter darah tidak normal, akibatnya terjadi penyakit atau gangguan pada darah dan fungsi darah yang pada gilirannya dapat menyebabkan gangguan pada organ lain.

Minuman probiotik dari fermentasi buah sirsak gunung mempunyai pengaruh sebagai antidiare dengan mengurangi diameter rembesan feses pada kertas saring, hal ini sesuai dengan referensi dalam jurnal Arief *et al* (2008) bahwa minuman probiotik dapat menanggulangi penyakit gastroenteritis seperti diare akibat *Escherichia coli*. Probiotik memiliki mekanisme dalam menghambat *Escherichia coli* yaitu dengan cara kompetisi untuk mengadakan perlekatan dengan enterosit untuk mencegah kolonisasi bakteri patogen sehingga bakteri *Escherichia coli* tidak dapat membentuk toksin yang akan merangsang pengeluaran Cl^- dan menghambat Na^+ .

Pada hasil pengamatan frekuensi defekasi dapat dilihat pada tabel 4.3. Defekasi atau buang air besar (BAB) adalah suatu proses evakuasi tinja dari dalam rektum, yang terdiri dari bahan yang tidak digunakan lagi dan harus dikeluarkan dari dalam tubuh (Rochsitasari, 2011). Dari hasil pengamatan sebelum pemberian minuman probiotik atau setelah terinfeksi bakteri *Escherichia coli* frekuensi diare meningkat. Sedangkan setelah pemberian minuman probiotik dengan dosis yang berbeda pada setiap kelompok perlakuan didapatkan hasil frekuensi defekasi menurun. Pada analisis data terhadap frekuensi defekasi dengan uji *One way anova*, nilai sig ($p=0,000$) maka H_1 diterima, jadi terdapat perbedaan antara semua perlakuan terhadap frekuensi defekasi (pada lampiran 8). Mekanisme defekasi diawali dengan gerakan peristaltik dari otot-otot dinding usus besar menggerakkan tinja dari saluran cerna menuju ke rektum. Pada rektum

terdapat bagian yang membesar (disebut ampulla) yang menjadi tempat penampungan tinja sementara. Otot-otot pada dinding rektum yang dipengaruhi oleh sistem syaraf sekitarnya dapat membuat suatu rangsangan untuk mengeluarkan tinja keluar tubuh. ketikan ada infeksi bakteri atau virus di usus maka secara lefleks usus akan mempercepat laju tinja sehingga penyerapan air sedikit. Akibatnya tinja menjadi lebih encer dengan frekuensi lebih sering sehingga terjadi kontraksi dan perut terasa mulas. Sedangkan saat diberi minuman probiotik untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen terjadi proses relaksasi dan proses penyerapan air terjadi secara normal sehingga frekuensi feses berkurang. Temuan tersebut sesuai dengan kepustakaan sebelumnya yang menyebutkan semakin keras konsistensi tinja, maka makin jarang frekuensi defekasinya.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pengujian keefektifan antidiare minuman probiotik dari hasil fermentasi sirsak gunung (*Annona montana* Macf) dapat disimpulkan dan dosis yang paling efektif yaitu dosis 0,30ml/kgbb.

5.2 Saran

Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mutu sediaan minuman probiotik dari fermentasi buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf) yang layak dikonsumsi.

Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jumlah bakteri pada feses menciit yang dapat menyebabkan diare.

DAFTAR RUJUKAN

- Anonim, 2001, **McFarland Standards, PML Microbiologicals Inc.**, Wilsonville, hal. 1-2.
- Anonim. 2011.**Buku Saku Petugas Kesehatan Lintas Diare.** Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 2010. **Bakteri Asam Laktat.** <http://www.wikipedia.bakteriasamlaktat/wikipediabahasaIndonesia,ensiklopediabebas.html>. Diakses pada 24 Maret 2015.
- Arief I, Maheswari RRA, Nuraini H.2008. **Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Daging Sapi.** Makalah Seminar Hasil Penelitian Departemen IPTP. Fak. Peternakan IPB.
- Astawan M., Wresdiyati T., Arief II., Febriyanti D. 2011. **Potensi Bakteri Asam Laktat Probiotik Indigenus Sebagai Antidiare dan Imunomodulator.** Institut Pertanian, Bogor.
- Blanchette, L, D. Roy, G. Belanger and S.F. Gauthier, 1996. *Production of cottage chese using dressing fermented by bifidobacteria.*J. Dairy Sci. 79 : 8-15
- Culligan EP, Hill C, dan Sleator RD. 2009. *Probiotics and gastrointestinal disease: Successes, problems, and future prospects.* Gut Pathogens 1: 19.
- Dewi E., Khairil., Mudatsir. 2013. **Analisis Potensi Antibakteri Teh Rosela Terhadap Paparan Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) Pada Mencit (*Mus musculus*).** Jurnal Kedokteran Syiah Kuala Volume 13 Nomor 2.
- Emmawati, A. 2014. *Kajian Antiinfeksi Isolat Bakteri Asam Laktat Asal .* Institut Pertanian Bogor.

- Marcel Dekker. 1991. **Federer W. Statistics and society: data collection and interpretation. 2nd ed.** New York
- Inayah L. (2006). **Asuhan Keperawatan Pada Kelien Dengan Gangguan Sistem Pencernaan.** Jakarta:Selemba Medika
- Juliantina R. 2009. **Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif.** Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia Vol.1
- Johannes, Eva. 2012. **Pemanfaatan Senyawa Bioaktif Hasil Isolasi Hidroyd *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux Sebagai Bahan Sanitizer pada Buah dan Sayuran Segar.** Universitas Hasanuddin Makassar.
- Lee. H.J., H.Yoon, Y.Ji, H.Kim, H.Park, J.Lee. 2011. ***Functional properties of Lactobacillus strains isolated from kimchi.*** Int J Food Microbiol 145:155161.
- Misgiyarta, S dan Widowati, 2005. ***Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenus.*** Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor.
- Muliani, Hirawati. 2011. ***Pertumbuhan Mencit (*Mus Musculus L.*) Setelah Pemberian Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*).*** Buletin Anatomi dan Fisiologi Vol. XIX, No. 1.
- Ngili, Y. 2009. **Biokimia: Struktur dan Fungsi Biomolekul.** Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Noegroho, Adi. Jaya, Firman.2007. **Pembuatan Minuman Probiotik (Yoghurt) dari Proporsi Susu Sapi dan Kedelai dengan *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*.** Laporan Praktikum Fisiologi Pasca Panen. Universitas Brawijaya Malang.
- Nopriadi N, Isnaeni dan Noor Erma Nasution. 2015. ***Aktivitas Antibakteri Susu Probiotik Lactobacilli Terhadap Bakteri Penyebab Diare (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio cholerae*).*** Fakultas Farmasi

Universitas Airlangga. Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia, Vol.2 No.1

Reid G, Kim SO, Köhler GA. 2006. *Selecting, testing and understanding probiotic microorganisms*. FEMS Immunol Med Microbiol 46(2):149-5

Retnowati, P dan Kusnadi, J,2014. **Pembuatan Minuman Probiotik Sari Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) Dengan Isolat *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum***. Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol.2 No.2 p.70-81. Universitas Brawijaya Malang.

Riyadi, Lieke. 2007. **Teknologi Fermentasi**. Graha Ilmu : Yogyakarta.

Robert MK, Nelson WE. *Nelson textbook of pediatrics*. 18th edition. Philadelphia: Saunders; 2007.p. 1613-1616

Rochsitasari, N. Santosa, B. Puruhita, N. *Perbedaan frekuensi defekasi dan konsistensi tinja bayi sehat yang mendapat asi eksklusif, non eksklusif, dan susu formula*. Sari Pediatri , Vol. 13, No. 3, Oktober 2011

Shanty, Meita. 2011. **Penyakit Saluran Pencernaan. Pedoman Menjaga dan Merawat Kesehatan Pencernaan**. Yogyakarta: Katahati

Sukarmin., Ihsan F. 2012. **Teknik Perompesan Daun Entres Pada Penyambungan Sirsak Ratu**. Buletin Teknik Pertanian 17(1): 18-21.

Suharyono. 2008. **Diare Akut. Klinik dan Laboratorik Cetakan Kedua**. Rineka Cipta. Jakarta

Sukarmin. 2009b. **Teknik uji daya pertumbuhan dua spesies *Annona***. Buletin Teknik Pertanian 15(1): 13-15.

Suprihatin.2010. **Teknologi Fermentasi**. Penerbit UNESA University Press.

Susanti, N.L. 2013. **Laporan Teknik Instrumentasi Laboratorium Biosistem (Hewan Coba)**. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Saad N, Delattre C, Urdaci M, Schmitter JM, Bressolier P. 2013. *An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field*. LWT 50: 1-16
Tamang, J.P.,
- Tambunan A.R. 2016. **Karakteristik Probiotik Berbagai Jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas**. Universitas Lampung Bandar Lampung.
- Tamang B., Schillinger U., Guigas C., Holzappel W. H. 2009. **Functional properties of lactic acid bacteria isolated from ethnic fermented vegetables of the Himalayas**. Int J Food Microbiol 135: 26-33
- Utami. DA. 2011. **Karakterisasi Molekular Bakteri Asam Laktat (BAL) Probiotik dengan Gen 16S rRNA yang Berpotensi Menghasilkan Bakteriosin dari Fermentasi Sirsak (Annona maricata .L)**.
- Vasiljevic, T. dan Shah, N.P. 2008. *Pobiotics – From Metchnikoff to bioactive*. International Dairy Journal 18: 414-728
- [WHO] World Health Organization. 2008. *The Global Burden of Disease: 2004 Update*. World Health Organization Press, Geneva

LAMPIRAN

Lampiran 1.

surat keterangan praktikum

UNIT PELAKSANA TEKNIS (UPT)
LABORATORIUM PUTRA INDONESIA
 Barito No. 5 Telp. (0341) 491132 ext. 109 | e-mail : uptlabpim57@gmail.com

SURAT KETERANGAN
 Nomor : 083 / UPT-LAB.PIM / V/ 2015

Yang bertandatangan di bawah ini:
 Nama : Meiria Istiana Sari, A.Md, S.Pd
 Jabatan : Ka. UPT Laboratorium PIM

Menyatakan dengan ini bahwa mahasiswa Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang :

Nama : DHEA AMELIA PUTRI
 NIM : 14041
 Judul KTI : **KEEFEKTIVAN ANTIDIARE MINUMAN PROBIOTIK DARI FERMENTASI BUAH SIRSAK GUNUNG (*Annona montana Macf.*) PADA MENCIT PUTIH (*Mus musculus*) YANG TERINFEKSI BAKTERI *E. COLI***

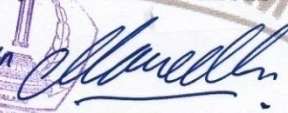
Telah melakukan penelitian dan pengambilan data di Laboratorium Farmakognosi dan Mikrobiologi Putra Indonesia Malang pada tanggal 05 April- 05 Mei 2017

Demikian surat keterangan ini kami buat untuk di pergunakan sebagaimana mestinya.

MALANG

UPT LABORATORIUM PIM

Malang, 13 Mei 2017
 Kepala UPT Laboratorium PIM


 MEIRIA ISTIANA SARI, A.Md, S.Pd

Lampiran 2.
Surat keterangan identifikasi



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 4266046
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN

No: 0877/IPH.06/HM/VII/2017

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

No.	Nama	NIM :
1.	Dhea Amelia	AKF : 14041
2.	Diah Eka Wahyu Wulan Putri	AKF : 14042
3.	Eva Rosiana Zain	AKF : 14056
4.	Irfina Luciana Boro	AKF : 14091
5.	Septi Wulandari	AKF : 14173

Instansi : Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.

Tanggal material diterima : 13 Juli 2017

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Subclass : Magnoliidae
Ordo : Magnoliales
Family : Annonaceae
Genus : Annona
Species : *Annona montana* Macfad.

Referensi:

1. An Alphabetical List of Plant Species Cultivated in The Purwodadi Botanic Garden, tahun 2013
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XIII

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 20 Juli 2017

An. Kepala

Pft. Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Bambang Walojo Sedjati SP.

Lampiran 3. Perhitungan dosis probiotik

- Dosis untuk manusia : 1 kali minum 65 ml

Konversi dari manusia ke mencit:

$$65 \text{ ml} \times 0,0026 = 0,169 \text{ ml} \sim 0,17 \text{ ml}$$

$$97,5 \text{ ml} \times 0,0026 = 0,2535 \text{ ml} \sim 0,25 \text{ ml}$$

$$130 \text{ ml} \times 0,0026 = 0,338 \text{ ml} \sim 0,30 \text{ ml}$$

Volume pemberian per oral :

$$\text{Volume pemberian peroral} = \frac{0,17g}{20g} \times 20 \text{ g} = 0,17 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian peroral} = \frac{0,25 \text{ ml}}{20g} \times 20 \text{ g} = 0,25 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian peroral} = \frac{0,30 \text{ ml}}{20g} \times 20 \text{ g} = 0,30 \text{ ml}$$

Lampiran 4. Perhitungan dosis kontrol positif

- Contrimoksazole (trimethoprim 80mg + sulfamethoxazole 400mg)
(kontrol positif)

Dosis untuk manusia: 1 kali minum 480 mg

Perhitungan dosis manusia ke mencit:

$$480 \text{ mg} \times 0,0026 = 1,248 \text{ mg} = 0,001248 \text{ g}$$

Cara pembuatan larutan stok :

$$\text{Volume pemberian peroral} = \frac{1,248 \text{ mg}}{20g} \times 20 \text{ g} = 1,248 \text{ mg (untuk menit 20g)}$$

$$\text{Tablet yang harus ditimbang} = \frac{1,248 \text{ mg}}{480 \text{ mg}} \times 600 \text{ mg} = 1,56 \text{ mg}$$

$$\text{Larutan stok} = \frac{1,56 \text{ mg}}{0,5 \text{ ml}} \times 25 \text{ ml} = 78 \text{ mg} / 25 \text{ ml}$$

$$\text{Volume penyuntikan} = \frac{DO \text{ praktek}}{DO \text{ konversi}} \times Vo \text{ konversi}$$

$$= \frac{1,248 \text{ mg}}{1,248 \text{ mg}} \times 0,5 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$$

Lampiran 5.

Perbandingan Diameter Rembesan Feses Pada Kertas Saring Sebelum dan Setelah Perlakuan

Kelompok	Rata- rata diameter rembesan fekes pada kertas saring									
	Sebelum perlakuan					Setelah perlakuan				
I kontrol (-)	1,2cm	1,1cm	1,2cm	1,3cm	1,2cm	0,9cm	0,8cm	0,9cm	0,7cm	0,7cm
II Kontrol (+)	1,2cm	1,3cm	1,2cm	1,3cm	1,3cm	0,3cm	0,3cm	0,4cm	0,3cm	0,4cm
III (Dosis 0,17 ml / kgbb)	1,2cm	1,3cm	1,2cm	1,2cm	1,2cm	0,3cm	0,4cm	0,3cm	0,3cm	0,4cm
IV (Dosis 0,25 ml / kgbb)	1,3cm	1,3cm	1,2cm	1,3cm	1,2cm	0,3cm	0,3cm	0,4cm	0,4cm	0,3cm
V (Dosis 0,30 ml / kgbb)	1,3cm	1,3cm	1,2cm	1,3cm	1,2cm	0,2cm	0,2cm	0,1cm	0,1cm	0,2cm

Lampiran 6.

Perbandingan Bentuk Feses Sebelum dan Setelah Pemberian Minuman Probiotik

Kelompok	Hasil pengamatan bentuk feses									
	Sebelum perlakuan					Setelah perlakuan				
Feses lembek cair Kontrol (-)	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair
Kontrol (+)	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses keras	Feses keras	Feses keras	Feses keras	Feses keras
Dosis 0,17 ml / kgbb	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses keras	Feses keras	Feses keras	Feses keras	Feses keras
Dosis 0,25 ml / kgbb	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses keras	Feses keras	Feses keras	Feses keras	Feses keras
Dosis 0,30 ml / kgbb	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses lembek cair	Feses keras	Feses keras	Feses keras	Feses keras	Feses keras

Lampiran 7.

Perbandingan Frekuensi Defekasi Sebelum dan Setelah Pemberian Minuman Probiotik

kelompok	Hasil pengamatan frekuensi defekasi										waktu
	Sebelum perlakuan					Setelah perlakuan					
Mencit ke-	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Kontrol (-)	8 kali	7 kali	8 Kali	6 Kali	7 Kali	7 kali	6 Kali	7 Kali	6 Kali	7 Kali	1 Jam
Kontrol (+)	7 kali	7 kali	8 Kali	8 Kali	6 Kali	3 kali	3 Kali	4 Kali	3 Kali	2 Kali	1 Jam
Dosis 0,17 ml / kgbb	8 kali	6 kali	7 Kali	8 Kali	7 Kali	3 kali	2 Kali	3 Kai	3 Kali	3 Kali	1 Jam
Dosis 0,25 ml / kgbb	7 kali	7 kali	7 Kali	8 Kali	7 Kali	3 kali	2 Kali	3 Kali	3 Kali	2 Kali	1 Jam
Dosis 0,30 ml / kgbb	7 kali	8 kali	7 Kali	6 Kali	7 Kali	2 kali	3 Kai	2 kali	2 Kali	2 Kali	1 Jam

Lampiran 8.

Hasil uji statistik One way anova (diameter rembesan feses pada kertas saring)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameter_feses
N		25
Normal Parameters(a,b)	Mean	,8440
	Std. Deviation	,25344
Most Extreme Differences	Absolute	,267
	Positive	,116
	Negative	-,267
Kolmogorov-Smirnov Z		1,337
Asymp. Sig. (2-tailed)		,056

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Descriptives

diameter_feses

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Upper Bound	Lower Bound		
kontrol negatif	5	,4000	,14142	,06325	,2244	,5756	,30	,60
kontrol positif	5	,9200	,08367	,03742	,8161	1,0239	,80	1,00
dosis 1	5	,8800	,04472	,02000	,8245	,9355	,80	,90
dosis 2	5	,9200	,08367	,03742	,8161	1,0239	,80	1,00
dosis 3	5	1,1000	,07071	,03162	1,0122	1,1878	1,00	1,20
Total	25	,8440	,25344	,05069	,7394	,9486	,30	1,20

Test of Homogeneity of Variances

diameter_feses

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,122	4	20	,038

ANOVA

diameter_feses

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,378	4	,344	42,000	,000
Within Groups	,164	20	,008		
Total	1,542	24			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter_feses
Tukey HSD

(I) kelompok_perlakuan	(J) kelompok_perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	kontrol positif	-,52000(*)	,05727	,000	-,6914	-,3486
	dosis 1	-,48000(*)	,05727	,000	-,6514	-,3086
	dosis 2	-,52000(*)	,05727	,000	-,6914	-,3486
	dosis 3	-,70000(*)	,05727	,000	-,8714	-,5286
kontrol positif	kontrol negatif	,52000(*)	,05727	,000	,3486	,6914
	dosis 1	,04000	,05727	,954	-,1314	,2114
	dosis 2	,00000	,05727	1,000	-,1714	,1714
	dosis 3	-,18000(*)	,05727	,037	-,3514	-,0086
dosis 1	kontrol negatif	,48000(*)	,05727	,000	,3086	,6514
	kontrol positif	-,04000	,05727	,954	-,2114	,1314
	dosis 2	-,04000	,05727	,954	-,2114	,1314
	dosis 3	-,22000(*)	,05727	,008	-,3914	-,0486
dosis 2	kontrol negatif	,52000(*)	,05727	,000	,3486	,6914
	kontrol positif	,00000	,05727	1,000	-,1714	,1714
	dosis 1	,04000	,05727	,954	-,1314	,2114
	dosis 3	-,18000(*)	,05727	,037	-,3514	-,0086
dosis 3	kontrol negatif	,70000(*)	,05727	,000	,5286	,8714
	kontrol positif	,18000(*)	,05727	,037	,0086	,3514
	dosis 1	,22000(*)	,05727	,008	,0486	,3914
	dosis 2	,18000(*)	,05727	,037	,0086	,3514

* The mean difference is significant at the .05 level.

diameter_feses

Tukey HSD

kelompok_perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
	1	2	3	1
kontrol negatif	5	,4000		
dosis 1	5		,8800	
dosis 2	5		,9200	
kontrol positif	5		,9200	
dosis 3	5			1,1000
Sig.		1,000	,954	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lampiran 9.

Hasil uji statistik One way anova (frekuensi defekasi)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		frekuensi_defekasi
N		25
Normal Parameters(a,b)	Mean	3,8000
	Std. Deviation	1,50000
Most Extreme Differences	Absolute	,353
	Positive	,212
	Negative	-,353
Kolmogorov-Smirnov Z		1,765
Asymp. Sig. (2-tailed)		,004

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Descriptives

frekuensi_defekasi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol negatif	5	1,0000	,00000	,00000	1,0000	1,0000	1,00	1,00
kontrol positif	5	4,2000	,44721	,20000	3,6447	4,7553	4,00	5,00
dosis 1	5	4,4000	,54772	,24495	3,7199	5,0801	4,00	5,00
dosis 2	5	4,6000	,54772	,24495	3,9199	5,2801	4,00	5,00
dosis 3	5	4,8000	,44721	,20000	4,2447	5,3553	4,00	5,00
Total	25	3,8000	1,50000	,30000	3,1808	4,4192	1,00	5,00

Test of Homogeneity of Variances

frekuensi_defekasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5,714	4	20	,003

ANOVA

frekuensi_defekasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	50,000	4	12,500	62,500	,000
Within Groups	4,000	20	,200		
Total	54,000	24			




Lampiran.10



Standard McFarlands

Cat No.	McFarland Standard	1% BaCl ₂ (mL)	1% H ₂ SO ₄ (mL)	Approximate Bacterial Suspension / mL
TM50	0.5	0.05	9.95	1.5 x 10 ⁸
TM51	1.0	0.10	9.90	3.0 x 10 ⁸
TM52	2.0	0.20	9.80	6.0 x 10 ⁸
TM53	3.0	0.3	9.7	9.0 x 10 ⁸
TM54	4.0	0.4	9.6	1.2 x 10 ⁹
TM55	5.0	0.5	9.5	1.5 x 10 ⁹
TM56	6.0	0.6	9.4	1.8 x 10 ⁹
TM57	7.0	0.7	9.3	2.1 x 10 ⁹
TM58	8.0	0.8	9.2	2.4 x 10 ⁹
TM59	9.0	0.9	9.1	2.7 x 10 ⁹
TM60	10.0	1.0	9.0	3.0 x 10 ⁹

Lampiran 11.

Gambar bentuk feses

Bentuk feses	Keterangan
	Feses perlakuan I kelompok negatif
	Feses perlakuan II kelompok positif
	Feses perlakuan III dosis probiotik 0,17 ml/kgbb

	<p>Feses perlakuan IV dosis probiotik 0,25 ml/kgbb</p>
	<p>Feses perlakuan V dosis probiotik 0,30ml/kgbb</p>