

TERAPI SINBIOTIK TERHADAP DIARE AKUT DENGAN INTOLERANSI LAKTOSA SEKUNDER

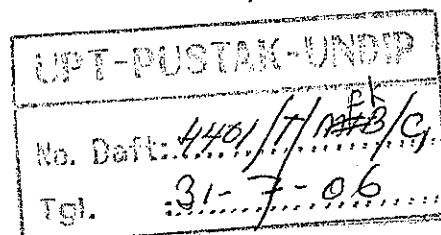


Tesis
untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat S-2

Magister Ilmu Biomedik

Wisnu Barlianto
G4A002028

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
OKTOBER
2005



HALAMAN PENGESAHAN

TESIS

**TERAPI SINBIOTIK TERHADAP DIARE AKUT DENGAN
INTOLERANSI LAKTOSA SEKUNDER**

Disusun oleh

WISNU BARLIANTO

G4A002028

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 6 Oktober 2005
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Mengetahui
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama

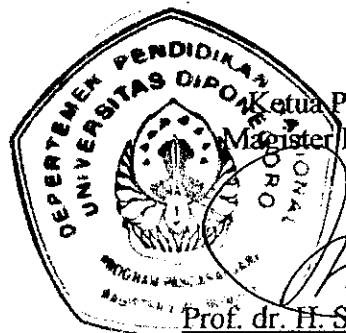


Prof. Dr. dr. I. Sudigbia, SpA(K)
NIP: 130 205 456

Pembimbing Kedua



dr. I. Hartantyo, SpA(K)
NIP : 140 089 036



Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik,

Prof. dr. H. Soebowo, SpPA(K)
NIP : 130 352 549

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penelitian maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 6 Oktober 2005

Wisnu Barlianto

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : dr. Wisnu Barlianto

Tempat/tanggal lahir : Bandung/26 Juli 1973

Agama : Islam

Jenis kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SD Negeri 5 Sabang : lulus tahun 1985

2. SMP Negeri 1 Nganjuk : lulus tahun 1988

3. SMA Negeri 2 Nganjuk : lulus tahun 1991

4. FK. Universitas Brawijaya Malang : lulus tahun 1997

5. Spesialisasi Ilmu Kesehatan Anak FK UNDIP : 2002 - sekarang

6. Magister Ilmu Biomedik UNDIP : 2002 – sekarang

C. Riwayat Pekerjaan

Tahun 1998-2001 : dokter Puskesmas Sooko, Kabupaten Mojokerto

C. Riwayat Keluarga

1. Nama orang tua

Ayah : Muhammad Nizar, SH

Ibu : Nuraini, SH

2. Nama Isteri : dr. Dini Rachma Erawati

3. Nama Anak : - Muhammad Ilham Barliansyah

- Muhammad Irfan Barliawan

KATA PENGANTAR

Syukur kami panjatkan kepada Allah SWT, merupakan hal pertama yang ingin diungkapkan, karena atas berkat dan bimbinganNya kami dapat menyelesaikan tugas laporan penelitian guna memenuhi persyaratan dalam menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis I dalam bidang Ilmu Kesehatan Anak di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Kami menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna karena ketidakmampuan kami. Namun karena dorongan keluarga, teman, dan bimbingan guru-guru kami maka tulisan ini dapat terwujud.

Banyak sekali pihak yang telah berkenan membantu dalam menyelesaikan penulisan ini, jadi kiranya tidaklah berlebihan apabila pada kesempatan ini perkenankanlah kami menghaturkan rasa terima kasih dan penghormatan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Rektor Universitas Diponegoro yang memberi kesempatan kepada siapa saja yang berkeinginan untuk meningkatkan ilmu pengetahuan.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang yang telah memberi kesempatan kepada kami untuk mengikuti pendidikan spesialisasi.
3. Direktur Utama RS dr. Kariadi Semarang beserta staf yang telah memberi kesempatan dan kerjasama yang baik selama mengikuti pendidikan spesialisasi.
4. dr. Budi Santosa, SpA(K) selaku Ketua Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang yang telah meluangkan waktu,

tenaga dan pikiran untuk memberi pengarahan dan dukungan moril selama pendidikan.

5. dr. Hendriani Selina, SpA(K), MARS selaku Ketua Program Studi Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing, memberi pengarahan, referensi dan dukungan moril selama pendidikan.
6. Prof. Dr. H. Soebowo, SpPA(K) selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberi pengarahan dan dukungan moril selama pendidikan.
7. Prof. Dr. Dr. I. Sudigbia, SpA(K) selaku pembimbing yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberi bimbingan, dorongan, motivasi dan arahan yang tidak putus-putusnya untuk dapat menyelesaikan studi dan penyusunan laporan penelitian ini.
8. dr. I. Hartantyo, SpA(K) selaku pembimbing yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberi bimbingan, dorongan, dan arahan yang tidak putus-putusnya untuk dapat menyelesaikan penyusunan laporan penelitian ini.
9. Prof. dr. Siti Fatimah Muis, MSc, SpGK, dr. Budi Santosa, SpA(K), dr. Tjipta Bahtera SpA(K), Prof. Dr. dr. Tjahjono, SpPA(K), FIAC, selaku penguji yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberi masukan dan arahan yang tidak putus-putusnya untuk perbaikan penyusunan laporan penelitian ini.

10. dr. M. Mexitalia S, SpA(K) selaku dosen wali yang telah berkenan memberikan dorongan, motivasi dan arahan yang tidak putus-putusnya untuk dapat menyelesaikan studi dan penyusunan laporan penelitian ini..
11. dr. Niken Puruhita, MmedSc yang dengan sabar, teliti dan senang hati membantu peneliti dalam pengolahan data, membimbing dan memberi arahan dalam penyusunan laporan penelitian kami.
12. Guru-guru kami di Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang yang sangat kami hormati, kami cintai dan kami banggakan, atas segala bimbingan yang diberikan selama penulis menjalani pendidikan.
13. Rekan Residen PPDS I Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, sahabat-sahabatku seperjuangan atas bantuan, kekompakan, setia kawan dan kerjasama yang selalu ada dalam suka dan duka selama menempuh pendidikan.
14. Bapak M. Nizar, SH dan ibu Nuraini, SH orang tuaku tercinta yang dengan penuh kasih sayang dan pengorbanan telah mengasuh, membesarkan, mendidik dan menanamkan rasa disiplin dan tanggung jawab serta memberikan dorongan semangat, bantuan moril maupun material, sujud dan bakti kami haturkan dengan tulus hati.
15. Bapak Soepangkat (almarhum) dan ibu Subidaryati, mertuaku tercinta yang dengan penuh kasih sayang dan perhatian memberikan dorongan semangat, bantuan moril maupun material, sujud dan bakti kami haturkan dengan tulus hati.

16. Isteriku tercinta dr. Dini Rachma Erawati serta kedua buah hati dan cintaku M. Ilham Barliansyah dan M. Irfan Barliawan yang begitu luar biasa dengan setia dan tabah mendampingi dalam suka dan duka, memberikan dorongan, semangat, pengorbanan dan senyuman selama menjalani pendidikan..

Semoga Allah SWT selalu berkenan memberikan berkat dan rahmatNya kepada kita semua. AMIN.

Semarang, September 2005

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul	-
Halaman Pengesahan	i
Pernyataan	ii
Riwayat Hidup	iii
Kata Pengantar	iv
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	ix
Daftar Gambar.....	x
Abstrak	xi
Bab I Pendahuluan	1
Bab II Tinjauan Pustaka	4
Bab IV Hipotesis	35
Bab V Metodologi	36
Bab VI Hasil Penelitian	45
Bab VII Pembahasan	49
Bab VIII Kesimpulan dan Saran	56
Daftar Pustaka	57
Lampiran.....	-

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
1	Komposisi mikroflora usus	16
2	Karakteristik umum penderita	45
3	Karakteristik penderita pada kelompok perlakuan dan kontrol	46
4	Variabel lama diare di RS pada kelompok perlakuan dan kontrol	47
5	Variabel lama diare dan berat feses pada kelompok perlakuan dan kontrol	47
6	Variabel tes reduksi pada kelompok perlakuan dan kontrol	48
7	Variabel kenaikan berat badan pada kelompok perlakuan dan kontrol	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
1	Bakteri yang baik dan yang jahat yang terdapat di dalam usus manusia	24
2	Prosentase tes reduksi negatif	48

TERAPI SINBIOTIK TERHADAP DIARE AKUT DENGAN INTOLERANSI LAKTOSA SEKUNDER

Abstrak

Latar belakang : Infeksi rotavirus memberikan perubahan pada sistem mikrovili sehingga timbul defisiensi enzim laktase sekunder. Studi pada bayi menunjukkan 30%-50% bayi dengan infeksi rotavirus menderita intoleransi laktosa sekunder. Probiotik dapat mempercepat penyembuhan diare akut pada anak. Kombinasi prebiotik dan probiotik (sinbiotik) akan meningkatkan daya tahan hidup probiotik.

Tujuan Penelitian : Mengetahui pengaruh terapi sinbiotik terhadap penyembuhan diare akut dengan intoleransi sekunder.

Metode : Penelitian ini merupakan uji klinis acak, dilakukan di bangsal anak, bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Rumah Sakit Dr Kariadi Semarang. Subyek sebanyak 40 anak usia 1-24 bulan. Semua penderita mendapatkan susu rendah laktosa dan terapi sesuai prosedur pengelolaan diare akut dengan intoleransi laktosa sekunder. Kelompok perlakuan mendapatkan sinbiotik 1 kapsul (campuran *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Fructo-oligosaccharide*) sehari selama 5 hari. Feses ditimbang setiap hari dengan timbangan roti. Berat badan diukur tiap hari dengan timbangan digital. Pemeriksaan substansi reduksi dilakukan selama feses cair dengan uji Benedict. Data dianalisis dengan uji t dan Mann Whitney U.

Hasil : Terdapat penurunan lama diare pada kelompok yang mendapatkan sinbiotik dibandingkan kontrol, dimana rerata lama diare pada kelompok perlakuan 32 jam ($\pm 20,7$) dibanding 59,4 jam ($\pm 28,2$) pada kelompok kontrol ($p=0,001$). Jumlah kasus yang mengalami konversi tes reduksi pada hari kedua lebih tinggi pada kelompok perlakuan dibanding kontrol ($p=0,011$). Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna pada berat feses dan kenaikan berat badan antara kedua kelompok.

Kesimpulan : Sinbiotik memperpendek lama diare dan mempercepat konversi tes reduksi pada anak diare dengan intoleransi laktosa sekunder.

Kata kunci: Sinbiotik, diare akut, intoleransi laktosa sekunder, lama diare, berat feses, tes reduksi, anak

SYNBIOTIC THERAPY FOR ACUTE DIARRHEA IN CHILDREN WITH SECONDARY LACTOSE INTOLERANCE

Abstract

Background : Rotaviral infection that change microvillus system could cause secondary lactase deficiency. Study shown 30%-50% baby with rotaviral infection suffering secondary lactose intolerance. Probiotic has been proven to promote recovery from acute diarrhea in children. Synbiotic is combination of probiotic and prebiotic that can improve the survival of the probiotic.

Objective : This study was aimed to investigate the effect of synbiotic therapy on recovery of acute diarrhea in children with secondary lactose intolerance.

Methods : A randomized clinical trial was conducted in 40 children aged 1-24 month, in pediatric ward of dr. Kariadi Hospital Semarang. Subjects were randomly allocated into 2 groups. Children in both groups received low lactose milk and standard diarrhea therapy. In treatment group, children were given 1 capsule of synbiotic containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Fructo-oligosaccharid*, while in the control group, they received *saccharum lactis* capsul. Stool volume and body weight were measured everyday. Reduction test was conducted during liquid stool with Benedict test. Mann Whitney U and t-test were used to analyze data.

Result : The treatment group indicated reduction in the duration of diarrhea, with the mean duration of diarrhea in treatment group was 32 hours ($\pm 20,7$) compared to 59,4 hours ($\pm 28,2$) in control group ($p=0,001$). On the second day, the number of reduction test conversion was significantly higher in the treatment group compared to the control ($p=0,011$). There were no differences in stool volume and body weight gain between treatment and control groups.

Conclusion : Synbiotic was effective to shorten the duration of diarrhea and accelerate reduction test conversion for acute diarrhea in children with secondary lactose intolerance..

Key word : Synbiotic, acute diarrhea, secondary lactose intolerance, diarrhea duration, stool volume, reduction test, children

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diare adalah penyebab utama kesakitan dan kematian pada anak di negara berkembang dengan perkiraan 1,3 milyar episode dan 3,2 juta kematian setiap tahun pada balita. Hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga di Indonesia tahun 1995 menunjukkan angka kematian diare balita 1 permil per tahun dan bayi 8 permil per tahun. Kebanyakan episode diare terjadi pada 2 tahun pertama kehidupan dengan insiden tertinggi pada golongan umur 6 – 11 bulan.¹

Rotavirus merupakan penyebab utama diare akut baik di rumah sakit, puskesmas maupun di masyarakat.² Infeksi rotavirus memberikan perubahan pada sistem mikrovili sehingga timbul defisiensi enzim laktase sekunder yang diproduksi oleh ujung-ujung vili mikro yang diikuti dengan gagalnya pencernaan terhadap laktosa. Studi pada bayi menunjukkan 30%-50% bayi dengan infeksi rotavirus menderita intoleransi laktosa sekunder. Penyembuhan defisiensi laktase sekunder tergantung pada regenerasi epitel yang didukung dengan kecukupan nutrisi sebagai bahan perbaikan dan pertumbuhan sel serta dipengaruhi pula oleh ekologi intra intestinal.^{1,3,4,5} Telah lama diketahui bahwa mikroflora normal intestinal memegang peranan penting dalam memelihara kesehatan saluran cerna.⁶

Salah satu usaha untuk memperbaiki ekologi intra intestinal adalah dengan pemberian probiotik. Probiotik banyak disebut sebagai suatu bakteri non patogen penghuni normal usus. Keberadaan bakteri tersebut memberikan keuntungan pada pejamu dalam aspek kesehatan terutama dalam hal proteksi usus terhadap serangan bakteri-bakteri patogen.^{6,7,8} Beberapa penelitian menunjukkan bahwa probiotik cukup

efektif untuk pencegahan dan pengobatan terhadap bermacam-macam kelainan gastrointestinal misalnya diare karena pemakaian antibiotika yang berlebihan, diare nosokomial, diare karena infeksi bakteri maupun virus, *traveler's diarrhea*, dan *inflammatory bowel disease*.^{7,9} Penelitian di Polandia tahun 1998-1999 menunjukkan bahwa pemberian probiotik dapat mencegah terjadinya diare nosokomial pada anak yang dirawat di rumah sakit.¹⁰ Penelitian di Nebraska, Amerika Serikat tahun 1998 menunjukkan bahwa pemberian probiotik dapat mencegah terjadinya diare akibat pemakaian antibiotik.¹¹ Selain itu beberapa studi meta analisis terhadap penelitian penggunaan probiotik terhadap diare akibat infeksi dan diare akibat antibiotik di Amerika Serikat dan Inggris menunjukkan hasil yang positif.^{12,13} Penelitian yang dilakukan di Peru tahun 1998 tentang penggunaan probiotik ($3,7 \times 10^{10}$ organisme *Lactobacillus GG* per hari) pada anak dengan malnutrisi menunjukkan efektifitasnya dalam mencegah diare.¹⁴ Penelitian di Semarang tahun 1997 tentang penggunaan probiotik (2 kali 250 mg *lyophilized Saccharomyces boulardii* per hari) pada anak dengan diare akut menunjukkan efikasinya dalam memperpendek lama diare di rumah sakit.¹⁵ Untuk pertumbuhan yang subur dari bakteri probiotik diperlukan adanya substansi sebagai nutrisi yang disebut dengan prebiotik. Kombinasi probiotik dan prebiotik dinamakan sebagai sinbiotik. Keuntungan dari kombinasi ini adalah meningkatkan daya tahan hidup bakteri probiotik oleh karena substrat yang spesifik telah tersedia untuk fermentasi sehingga manusia mendapatkan manfaat yang lebih sempurna dari kombinasi ini. Penelitian tentang pemberian sinbiotik pada diare dengan intoleransi laktosa sekunder masih belum ada. Oleh karena itu dalam studi ini kami ingin mengevaluasi pengaruh pemberian sinbiotik terhadap penyembuhan diare dengan intoleransi laktosa sekunder.

1.2 Rumusan Masalah

Mengacu pada uraian terdahulu ingin diketahui sejauh mana pengaruh sinbiotik terhadap penyembuhan diare dengan intoleransi laktosa sekunder.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan Umum:

Mengevaluasi pengaruh sinbiotik terhadap penyembuhan diare dengan intoleransi laktosa sekunder.

Tujuan Khusus:

- Menilai pengaruh sinbiotik terhadap lamanya diare
- Menilai pengaruh sinbiotik terhadap berat feses
- Menilai pengaruh sinbiotik terhadap konversi tes reduksi
- Menilai pengaruh sinbiotik terhadap kenaikan berat badan
- Menganalisis beda lama diare, kecepatan konversi tes reduksi, dan kenaikan berat badan antara kontrol dan perlakuan

1.4 Manfaat Penelitian

1) Pendidikan

Memberi asupan bahwa pemberian sinbiotik efektif dalam penyembuhan diare dengan intoleransi laktosa sekunder.

2) Penelitian

Sebagai asupan untuk penelitian lebih lanjut.

3) Pelayanan kesehatan

Memberi asupan bahwa sinbiotik dapat mempercepat penyembuhan diare dengan intoleransi laktosa sekunder.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diare

2.1.1 Definisi

Diare atau penyakit diare (*diarrheal disease*) berasal dari kata *diarrola* (bahasa Yunani) yang berarti mengalir terus, merupakan suatu keadaan abnormal dari pengeluaran tinja yang terlalu frekuen. Hipokrates memberikan definisi diare sebagai suatu keadaan abnormal dari frekuensi dan kepadatan tinja.¹⁶

Lebenthal mendefinisikan diare secara klinis sebagai pasasi yang sering dari tinja dengan konsistensi lembek sampai cair, dengan volume melebihi 10 ml/kgBB/hari. Menurut Lebenthal definisi tersebut di atas sangat subyektif, karena keadaan tinja untuk masing-masing individu sulit disamaratakan. Sedangkan Silverman dkk mendefinisikan diare sebagai malabsorpsi air dan elektrolit dengan ekskresi isi usus yang dipercepat. Fungsi usus sebagai suatu pengatur yang efisien dan peka dari cairan ekstrasel, karena fungsi sekresi dan absorpsi yang dimilikinya. Sekresi dan absorpsi terjadi secara kompetitif dalam dinding usus menimbulkan aliran ke arah dua jurusan pada mukosa sehingga menghasilkan kondisi cairan isotonik dalam lumen usus yang stabil. Diare secara epidemiologik biasanya didefinisikan sebagai keluarnya tinja yang lunak atau cair tiga kali atau lebih dalam satu hari.¹⁶

Diare akut adalah diare yang terjadi secara akut dan berlangsung kurang dari 14 hari (bahkan kebanyakan kurang dari 7 hari), dengan pengeluaran tinja yang lunak atau cair yang sering dan tanpa darah. Diare kronik adalah diare yang berlangsung terus-menerus selama lebih dari dua minggu.^{1, 16}

2.1.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Diare

a. Infeksi

Infeksi penyebab diare dapat dibagi dalam infeksi parenteral dan infeksi enteral. Di negara berkembang, campak yang disertai dengan diare merupakan faktor yang sangat penting pada morbiditas dan mortalitas anak. Walaupun mekanisme sinergetik antara campak dan diare pada anak belum diketahui, diperkirakan kemungkinan virus campak sebagai penyebab diare secara enteropatogen.¹⁷

Sampai beberapa tahun yang lalu kuman-kuman patogen hanya dapat diidentifikasi 25% dari tinja penderita diare akut. Pada saat ini dengan menggunakan teknik yang baru, tenaga laboratorium yang berpengalaman dapat mengidentifikasi pada sekitar 75% kasus yang datang ke sarana kesehatan dan pada sekitar 50% kasus-kasus ringan di masyarakat. Penyebab infeksi utama timbulnya diare adalah golongan virus, bakteri, dan parasit. Rotavirus merupakan penyebab utama diare akut pada anak. Sedangkan bakteri penyebab diare tersering antara lain *ETEC*, *Shigella*, *Campylobacter*.^{1,2}

b. Umur

Pengaruh usia tampak jelas pada manifestasi diare. Komplikasi lebih banyak terjadi pada umur di bawah 2 bulan secara bermakna, dan makin muda usia bayi makin lama kesembuhan klinik diarenya. Kerusakan mukosa usus yang menimbulkan diare dapat terjadi karena gangguan integritas mukosa usus yang banyak dipengaruhi dan dipertahankan oleh sistem imunologik intestinal serta regenerasi epitel usus yang pada masa bayi muda masih terbatas kemampuannya.^{17, 18}

Sudigbia (1982) mendapatkan penderita diare yang dirawat selama tahun 1981 di RS. Dr. Kariadi Semarang kejadian tertinggi pada golongan umur 6-12 bulan, dan Sutoto (1982) mendapatkan kejadian tertinggi diare di RS. Karantina Jakarta 1980/1981 dari golongan umur 6-24 bulan. Sudigbia (1990) juga mendapatkan pada survei diare di Kecamatan Beringin kejadian tertinggi pada golongan umur 6-24 bulan.^{17, 18} Keadaan tersebut terjadi sangat mungkin karena pada umur 6-24 bulan jumlah air susu ibu sudah mulai berkurang dan pemberian makanan sapih yang kurang nilai gizinya serta nilai kebersihannya.^{16, 17}

c. Status Gizi

Menurut Satiri (1963) dan Gordon (1964) pada penderita malnutrisi serangan diare terjadi lebih sering dan lebih lama. Semakin buruk keadaan gizi anak, semakin sering dan berat diare yang dideritanya. Diduga bahwa mukosa penderita malnutrisi sangat peka terhadap infeksi, namun konsep ini tidak seluruhnya diketahui benar, patogenesis yang terperinci tidak diketahui. Menurut Stanfield (1974) perubahan-perubahan yang terjadi pada penderita malnutrisi adalah: 1) perubahan gastrointestinal dan 2) perubahan sistem imunitas.¹⁷

Di negara maju dengan tingkat pendidikan dan tingkat kesehatan yang tinggi, kelompok bayi yang mendapat air susu ibu lebih jarang menderita diare karena infeksi enteral dan parenteral. Hal ini disebabkan karena berkurangnya kontaminasi bakteri serta terdapatnya zat-zat anti infeksi dalam air susu ibu.¹⁷

d. Lingkungan

Sebagian besar penularan penyakit diare adalah melalui dubur, kotoran dan mulut. Dalam hal mengukur kemampuan penularan penyakit di samping tergantung jumlah dan kekuatan penyebab penyakit, juga tergantung dari kemampuan lingkungan untuk menghidupinya, serta mengembangkan kuman

penyebab penyakit diare. Sehingga dapat dikatakan bahwa penularan penyakit diare merupakan hasil dari hubungan antara a) faktor jumlah kuman yang disekresi (penderita atau *carrier*), b) kemampuan kuman untuk hidup di lingkungan, dan c) dosis kuman untuk menimbulkan infeksi, d) disamping ketahanan pejamu untuk menghadapi mikroba tadi.^{16, 17}

Perubahan atau perbaikan air minum dan jamban secara fisik tidak menjamin hilangnya penyakit diare, tetapi perubahan sikap dan tingkah laku manusia yang memanfaatkan sarana tersebut di atas sangat menentukan keberhasilan perbaikan sanitasi dalam mengurangi masalah diare.¹⁷

e. Susunan Makanan

Faktor susunan makanan terhadap terjadinya diare tampak sebagai kemampuan usus untuk menghadapi kendala yang berupa:^{16, 17}

1. Antigen

Susunan makanan mengandung protein yang tidak homolog, sehingga dapat berlaku sebagai antigen. Lebih-lebih pada bayi dimana kondisi ketahanan lokal usus belum sempurna sehingga terjadi migrasi molekul makro.

2. Osmolaritas

Susunan makanan baik berupa formula susu maupun makanan padat yang memberikan osmolaritas yang tinggi dapat menimbulkan diare misalnya *Neonatal Entero Colitis Necroticans* pada bayi.

3. Malabsorpsi

Kandungan nutrien makanan yang berupa karbohidrat, lemak maupun protein dapat menimbulkan intoleransi, malabsorpsi maupun alergi sehingga terjadi diare pada anak maupun bayi.

4. Mekanik

Kandungan serat yang berlebihan dalam susunan makanan secara mekanik dapat merusak fungsi mukosa usus sehingga timbul diare.

2.1.3 Patogenesis

Patogen enterik melekat pada sel mukosa melalui fimbrial atau afimbrial. Setelah interaksi ini, patogenesis diare tergantung apakah organisme masih menempel pada permukaan sel dan menghasilkan toksin sekretorik, menginvasi ke dalam mukosa, atau penetrasi ke dalam mukosa (tipe penetrasi atau sistemik)⁵

Menurut kelainan tinja yang didapat, pada dasarnya mekanisme patogenesis diare infeksi dapat dibagi menjadi:¹⁶

1. Diare sekretorik karena toksin
2. Patomekanisme invasif
3. Diare karena perlukaan oleh substansi intraluminal

Diare sekretorik biasanya disebabkan adanya enterotoksin yang dikeluarkan oleh organisme pada saat melekat pada permukaan sel. Beberapa mekanisme toksin menimbulkan diare antara lain: (1) aktivasi adenil siklase dengan akumulasi cAMP intra selular (*Vibrio cholerae*), (2) aktivasi guanil siklase dengan akumulasi cGMP intra selular (ETEC), (3) perubahan kalsium intra selular (EPEC), dan (4) stimulasi sistem saraf enterik (*Vibrio cholerae*). Beberapa enterotoksin lainnya menyebabkan diare melalui induksi sekresi klorida atau inhibisi reabsorpsi natrium dan klorida.⁵

Diare karena bakteri invasif diperkirakan sebagai penyebab 10-20 % kasus diare pada anak. Infeksi *Shigella*, *E. Coli* strain invasif dan *Camphylobacter jejuni* sering menimbulkan kerusakan mukosa usus halus dan usus besar. Invasi bakteri diikuti oleh pembengkakan dan kerusakan sel epitel mukosa usus, yang

menyebabkan diketemukannya sel-sel leukosit dan eritrosit dalam tinja atau darah segar.¹⁶

Virus juga berperan dalam diare, memberikan perubahan morfologi dan fungsional mukosa jejunum. Virus enteropatogen seperti Rotavirus menyebabkan infeksi lisis pada enterosit. Invasi dan replikasi virus dalam sel menginduksi kematian dan lepasnya sel. Enterosit yang lepas digantikan oleh sel imatur. Akibatnya terjadi penurunan enzim laktase dan gangguan transpor glukosa- Na^+ karena pengurangan aktifitas Na-K-ATPase. Hal ini menyebabkan terjadinya maldigesti karbohidrat dan diare osmotik.^{5, 19}

Hasil metabolisme bakteri kadang-kadang dapat berupa bahan yang dapat melukai mukosa usus. Bahan hasil metabolit tadi berupa dekonjugasi garam empedu, hidroksi asam lemak, asam organik rantai pendek, dan substansi alkohol. Selain itu substansi ini dapat merangsang usus sehingga terjadi diare.¹⁶

2.1.4 Patofisiologi

Berdasarkan gangguan fungsi fisiologis saluran cerna dan macam penyebab diare, maka patofisiologi diare dapat dibagi dalam tiga macam kelainan pokok yang berupa:

a. Kelainan Gerakan Transmukosal Air dan Elektrolit

Gangguan reabsorpsi pada sebagian kecil usus halus sudah dapat menyebabkan diare. Disamping itu peranan faktor infeksi pada patogenesis diare akut adalah penting, karena dapat menyebabkan gangguan sekresi (diare sekretorik), difusi (diare osmotik), malabsorpsi dan keluaran langsung. Faktor lain yang cukup penting dalam diare adalah empedu, karena dehidroksilasi asam dioksikolik dalam empedu akan mengganggu fungsi mukosa usus,

sehingga sekresi cairan di jejunum dan kolon serta menghambat reabsorpsi cairan di kolon. Diduga bakteri mikroflora usus turut memegang peranan dalam pembentukan asam dioksikolik tersebut.^{16, 17}

Hormon-hormon saluran diduga juga dapat mempengaruhi absorpsi air pada manusia, antara lain gastrin, sekretin, kolesistokinin dan glikogen. Suatu perubahan pH cairan usus seperti terjadi pada Sindrom Zollinger Ellison atau pada jejunitis dapat juga menyebabkan diare.¹⁶

b. Kelainan Laju Gerakan Bolus Makanan dalam Lumen Usus

Suatu proses absorpsi dapat berlangsung sempurna dan normal bila bolus makanan tercampur baik dengan enzim-enzim saluran cerna dan berada dalam keadaan yang cukup tercerna. Juga waktu sentuhan yang adekuat antara kim dan permukaan mukosa usus halus diperlukan untuk absorpsi yang normal.¹⁶

Motilitas usus merupakan faktor yang berperan penting dalam ketahanan lokal mukosa usus. Hipomotilitas dan stasis dapat menyebabkan mikroba usus berkembang biak secara berlebihan, yang kemudian dapat merusak mukosa usus. Kerusakan mukosa usus akan menimbulkan gangguan digesti dan absorpsi, yang kemudian akan terjadi diare. Selain itu hipermotilitas dapat memberikan efek langsung sebagai diare.^{16, 17}

c. Kelainan Tekanan Osmotik dalam Lumen Usus

Dalam beberapa keadaan tertentu setiap pembebanan usus yang melebihi kapasitas dari pencernaan dan absorpsinya akan menimbulkan diare. Adanya malabsorpsi karbohidrat, lemak, dan protein akan menimbulkan kenaikan daya tekanan osmotik intra lumen, yang akan menimbulkan gangguan absorpsi air. Malabsorpsi karbohidrat pada umumnya sebagai malabsorpsi laktosa, yang terjadi karena defisiensi enzim laktase. Dalam hal

ini laktosa yang terdapat dalam susu mengalami hidrolisis yang tidak sempurna sehingga kurang diabsorpsi oleh usus halus.¹⁶

2.1.5 Dampak diare

a. Kehilangan Air dan Elektrolit

Kehilangan air dan elektrolit (dehidrasi), serta gangguan keseimbangan asam basa disebabkan oleh: (1) *previous water losses*, kehilangan cairan sebelum pengelolaan, sebagai defisiensi cairan, (2) *normal water losses*, berupa kehilangan cairan karena fungsi fisiologis, (3) *concomittant water losses*, berupa kehilangan cairan waktu pengelolaan, dan (4) masukan makanan yang kurang selama sakit, berupa kekurangan masukan cairan karena anoreksia atau muntah.¹⁷

Mekanisme kekurangan cairan pada diare dapat terjadi karena: (1) pengeluaran usus yang berlebihan, karena sekresi mukosa usus yang berlebihan atau difusi cairan tubuh akibat tekanan osmotik intra lumen yang tinggi, (2) masukan cairan yang kurang, karena muntah, anoreksia, pembatasan makan dan minum, keluaran cairan tubuh yang berlebihan (demam atau sesak napas).¹⁷

b. Gangguan Gizi

Gangguan gizi pada penderita diare dapat terjadi karena: (1) masukan makanan berkurang, (2) gangguan penyerapan makanan, (3) katabolisme dan, (4) kehilangan langsung.¹⁷

c. Perubahan Ekologi dan Ketahanan Usus

Kejadian diare akut pada umumnya disertai dengan kerusakan mukosa usus, keadaan ini dapat diikuti dengan gangguan pencernaan karena depleksi

enzim. Akibat lebih lanjut adalah timbulnya hidrolisis nutrien yang kurang tercerna sehingga dapat menimbulkan peningkatan hasil metabolit yang berupa substansi karbohidrat dan asam hidrolisatnya. Keadaan ini akan merubah ekologi kimiawi isi lumen usus, yang dapat menimbulkan keadaan bakteri tumbuh lampau, yang berarti merubah ekologi mikroba isi usus. Bakteri tumbuh lampau akan memberikan kemungkinan terjadinya dekonjugasi garam empedu sehingga terjadi peningkatan jumlah asam empedu yang dapat memberikan timbulnya kerusakan mukosa usus lebih lanjut. Keadaan ini dapat pula disertai dengan gangguan mekanisme ketahanan lokal pada usus, baik yang disebabkan oleh kerusakan mukosa usus maupun perubahan ekologi isi usus.¹⁷

2.2 Digesti dan Absorpsi Laktosa

Karbohidrat dalam makanan bayi, anak, dan dewasa merupakan sumber kalori utama. Laktosa dalam susu merupakan sumber karbohidrat utama pada bayi. Konsentrasi laktosa dalam susu berbanding terbalik dengan kandungan lemak dan protein. Air susu ibu mengandung laktosa yang tinggi (7 %).^{20, 21}

Pada bayi normal, laktase memecah laktosa di usus halus menjadi glukosa dan galaktosa yang kemudian diabsorpsi dengan mekanisme transport aktif. Hidrolisis laktosa oleh laktase di usus halus merupakan penentu kecepatan absorpsinya. Aktivitas laktase dibandingkan disakaridase lainnya merupakan yang paling rendah dan enzim ini paling sering mengalami defisiensi. Hal ini dikarenakan lokasinya pada bagian yang paling distal dari ujung vilus sehingga rentan terhadap kerusakan vili.^{20,}

21, 22

Laktase disintesis di retikulum endoplasma sebagai polipeptida tunggal dan mengalami glikosilasi menjadi "*high mannose*" precursor. Setelah mengalami beberapa proses, laktase ditransportasikan dan diinsersikan pada membran mikrovilus. Laktase merupakan salah satu dari tiga enzim sel epitel usus dengan aktifitas β -galaktosidase. Enterosit juga mengandung Lysosomal acid β -galaktosidase, membantu hidrolisa laktosa, dan cytosolic β -galaktosidase yang tidak memiliki kekhususan terhadap laktosa.²¹

2.3 Intoleransi Laktosa

Intoleransi laktosa terjadi karena adanya defisiensi laktase. Defisiensi laktase dapat terjadi secara primer atau sekunder. Defisiensi primer terjadi karena penurunan aktivitas laktase yang dipengaruhi secara genetik. Defisiensi laktase kongenital merupakan kasus yang jarang. Sedangkan defisiensi laktase sekunder dapat terjadi karena infeksi virus (rotavirus merupakan penyebab yang paling sering), infeksi parasit yang berat (giardiasis), penyakit celiac, enteritis akibat radiasi, atau enteritis akibat obat.^{21, 22, 23}

Infeksi rotavirus merupakan penyebab paling banyak terjadinya intoleransi laktosa sekunder. Pada infeksi rotavirus terjadi kerusakan enterosit sehingga merangsang peningkatan enterosit yang imatur. Enterosit imatur ini menyebabkan gangguan digesti dan absorpsi laktosa. Penyembuhan intoleransi sekunder ini tergantung dari regenerasi epitel yang berkisar antara dua sampai empat minggu setelah infeksi dan dapat memanjang pada bayi-kurang dari enam bulan hingga empat sampai delapan minggu.^{4, 19}

Keparahan malabsorpsi laktosa dan beratnya gejala yang timbul tidak hanya ditentukan oleh jumlah laktase di usus halus, tetapi beberapa faktor lain juga ikut

berpengaruh. Pertama, jumlah laktosa yang masuk. Bila laktosa yang dikonsumsi melebihi kapasitas laktase yang tersedia, gejala malabsorpsi mungkin terjadi. Kedua, waktu pengosongan lambung. Waktu pengosongan lambung yang lambat akan meningkatkan digesti laktosa. Faktor ketiga berikutnya adalah waktu transit laktosa di usus, semakin lama waktu transit akan menurunkan gejala malabsorpsi laktosa. Sedangkan faktor keempat adalah normal flora yang memberikan mekanisme kompensasi yang mempengaruhi beratnya gejala. Jumlah bakteri kolon, organisme yang terkait, dan absorpsi produk fermentasi akan mempengaruhi derajat keluhan. Faktor terakhir yang mempengaruhi adalah cara pemberian laktosa.²¹

Adanya laktosa yang tidak terhidrolisis akan meningkatkan tekanan osmotik intra lumen sehingga terjadi perpindahan air ke dalam intralumen. Hal ini akan merangsang peristaltik sehingga akan meningkatkan kecepatan transit di usus dan mengganggu absorpsi. Selain itu laktosa yang tidak terhidrolisis ini akan mengalami fermentasi di kolon yang menghasilkan asam lemak rantai pendek dan gas. Keadaan pH yang rendah ini juga akan merangsang peristaltik.^{4, 21, 24}

Gejala klinik intoleransi sekunder ini berhubungan dengan adanya laktosa yang tidak terhidrolisis dan dapat terjadi akut maupun kronik. Pada yang akut dapat timbul mual, nyeri perut, distensi, flatulen, dan diare. Bila kerusakan mikrovili ini terjadi terus dapat terjadi diare kronik yang berlanjut pada keadaan malnutrisi. Selain itu peningkatan karbohidrat intra lumen ini dapat meningkatkan kolonisasi kuman patogen yang mengganggu keseimbangan flora normal usus. Hal ini akan memperberat keadaan intoleransi laktosa dan mempermudah terjadinya infeksi lebih lanjut.^{3, 20, 21}

Diagnosa intoleransi laktosa ditegakkan dengan gambaran klinis dan pemeriksaan penunjang. Riwayat timbulnya diare yang berair dan dihubungkan

dengan formula susu tertentu disertai eritema natum, merupakan gejala-gejala penting untuk menduga adanya intoleransi laktosa. Pemeriksaan penunjang pada intoleransi laktosa sekunder antara lain: pemeriksaan feses, tes toleransi oral, pengukuran aktivitas disakaridase mukosa, dan tes hidrogen pernapasan. Pemeriksaan feses merupakan pemeriksaan yang cukup mudah dan sederhana. Feses biasanya cair dan pH dibawah 5,5 karena adanya asam organik. Substansi reduksi dapat dengan mudah diperiksa dengan melarutkan 1 bagian feses dengan 1 bagian air dan ditambahkan 1 tablet *clinitest*. Terjadinya perubahan warna menunjukkan adanya substansi reduksi. Sedangkan pemeriksaan tes hidrogen pernapasan merupakan tes yang cukup sensitif dan spesifik serta tidak invasif. Selain itu pada pemeriksaan elektrolit feses akan didapatkan elektrolit $< 70 \text{ mEq/l}$ dan osmolaritas $> (\text{Na}^+ + \text{K}^+) \times 2$.^{3, 25, 26}

2.4 Mikroflora Usus

Saluran cerna merupakan suatu ekosistem tersendiri, dengan luas permukaan kurang lebih 200 m^2 . Di dalamnya hidup sekitar 10^{14} bakteri yang terdiri dari kurang lebih 400 spesies. Mikroflora ini memiliki peranan penting dalam menjaga kesehatan saluran cerna. Gangguan pada mikroflora ini dapat menyebabkan gangguan integritas *barier* usus.^{8, 9}

2.4.1 Perkembangan Mikroflora

Pada saat di dalam kandungan usus mungkin dalam keadaan steril, dan keadaan ini berubah ketika bayi dilahirkan karena adanya bakteri seperti *Bifidobacteria* dan *Lactobacilli* dari jalan lahir. Bayi yang dilahirkan secara *sectio caesar* memiliki komposisi mikroflora yang berbeda. Beberapa bukti menunjukkan

bayi yang dilahirkan secara alami memiliki resiko yang lebih kecil untuk terjadinya enterokolitis nekrotikans.^{8,27}

Mikroflora bayi yang mendapatkan ASI didominasi oleh *Bifidobacteria* dan *lactic acid bacteria*, dengan sedikit *Bacteroides*, *Clostridia*, dan *Coliform*. Sedangkan bayi yang minum susu formula, cenderung menunjukkan komposisi mikroflora yang berbeda dengan dominasi *Bacteroides*, *Clostridia*, dan bakteri enterik.^{8,27}

Tabel 1. Komposisi mikroflora usus (dikutip dari Hill)⁸

Dominan		Minor	
Bacteroides	10-11	Veillonella	5-7
Bifidobacteria	10-11	Enterococci	5-7
Fusobacteria	7-10	Bacilli	ND-5
Eubacteria	7-10	Micrococci/Staphylococci	ND-4
Lactobacilli	7-9	Methanogens	
Streptococci	6-8	Sulphate-reducing bacteria	
Clostridia	6-10	Anaerobic cocci	
Enterobacteria	6-8	lainnya	

Dinyatakan dalam Log¹⁰ bakteri per gram feses

Perkembangan mikroflora selanjutnya terjadi pada saat penyapihan dimana bayi mulai mendapatkan makanan padat. Komposisi mikroflora mulai lebih kompleks dan mulai menyerupai mikroflora orang dewasa. Saat ini *Bacteroides* dan bakteri gram negatif mulai mendominasi dengan kisaran yang lebar, seperti yang tampak pada tabel 1.⁸

2.4.2 Pendekatan Molekuler Mikroflora

Kultur dan isolasi organisme masih merupakan *gold standard* dalam analisa mikroba. Tetapi bila diaplikasikan terhadap populasi anaerob, metode-metode tersebut memiliki kekurangan yang menyebabkan populasi lambat, sulit tumbuh dan relatif subyektif. Juga, analisa mikroskopis menunjukkan bahwa proporsi sel bakteri yang besar yang terkandung di dalam sampel usus tidak dapat dikultur menggunakan teknik yang lama. Estimasi terbaru nilai kulturabilitas berkisar 15-58% dari semua sel yang ada. Oleh karenanya, teknik molekuler digunakan secara luas untuk menambah pengetahuan mengenai mikroflora, dan terutama teknik ini mengacu pada analisis 16S r RNA. Molekul ini penting dalam klasifikasi organisme dengan beberapa alasan.^{8,27}

1. molekul ini terdapat di dalam semua bentuk kehidupan seluler;
2. fungsi dasarnya pada bentuk kehidupan ditunjukkan pada rangkaian genetik;
3. mutasi pada gen r RNA menciptakan wilayah beragam didalam domain yang dapat digunakan untuk mengembangkan hubungan evolusi antar organisme.

Setelah isolasi asam nukleat, rDNA dapat di klon dan dihasilkan rangkaian untuk mengidentifikasi populasi bakteri yang menonjol. Penelitian terakhir mengenai tipe ini menunjukkan bahwa hanya 24% klon berhubungan dengan rangkaian di dalam data dasar, sehingga perlu digaris bawahi mengenai *gap* yang amat besar dalam pengetahuan kita tentang mikroflora yang tidak dapat di kultur. Teknik berbasis gel seperti DGGE/TGGE menunjukkan perbandingan 16S rRNA dari beragam sampel tetapi semuanya bersifat semi kuantitatif. Satu alternatif lain adalah immobilisasi RNA pada membran nilon untuk penggunaan di dalam hibridisasi *slot-blot*. Teknik ini memungkinkan kelebihan rangkaian 16S rRNA tertentu diukur relatif terhadap lainnya tetapi dibutuhkan pengetahuan sebelumnya

mengenai urutan untuk desain *probe*. Penggunaan label fluoresens pada hibridisasi *in situ* juga memerlukan desain *probe* tetapi metode ini memberikan ukuran populasi dalam bentuk jumlah sel dan selanjutnya dapat dibandingkan secara langsung dengan data hitung *viable*. Studi molekuler ini menunjukkan bahwa rRNA-rRNA yang dimiliki kelompok *Bacteroides*, *Fusobacteria*, *Lactobacilli*, *Bifidobacteria*, *Clostridia* dan *Eubacteria* menunjukkan dominasinya di dalam feses. Tetapi proporsi mereka berbeda secara signifikan di dalam sampel caecal dan membedakannya dari ukuran populasi yang diestimasi menggunakan teknik hitung *viable*.⁸

Flow cytometri dan *real-time PCR* (*polymerase chain reaction*) adalah metode yang memberikan harapan bagi analisis populasi bakteri dan dapat juga memberikan hubungan yang lebih baik dengan jumlah sel dibandingkan dengan teknik-teknik yang disebutkan sebelumnya. Metode yang akan datang adalah MALDI-TOF MS yang dapat digunakan untuk pengurutan cepat DNA dan dikombinasi dengan teknologi tinggi DNA *array*. Metode ini menawarkan kesempatan besar untuk mempelajari ekologi usus dimasa yang akan datang.^{6,8}

Bagian penting dari mikroflora yang tidak dikenali sebelumnya ini akan memproduksi SCFA, karsinogen atau toksin lain sehingga penting untuk mengembangkan aktifitas populasi ini di dalam ekosistem usus. Perspektif baru ini memunculkan banyak pertanyaan lain, apakah model hewan mempertahankan organisme-tidak dapat dikultur bersama dengan organisme kultur, bila dihubungkan dengan mikroflora feses manusia. Selain itu pertanyaan lain yang muncul adalah apakah keadaan tidak memiliki mikroflora-tidak dapat dikultur dapat menyebabkan penyakit.⁸

2.4.3 Konsep MAC/GAC

Interaksi bakteri di dalam usus telah diketahui mempengaruhi sistem pejamu seperti halnya populasi bakteri lainnya. Studi mengenai interaksi kompleks ini diuntungkan dari penggunaan binatang-bebas kuman dan konsep MAC/GAC berdasarkan pada model untuk menentukan pengaruh binatang. *Microflora-associated characteristics* (MAC) didefinisikan sebagai fisiologi, biokimia, imunologi atau struktur atau fungsi anatomi yang dimiliki makroorganisme yang dipengaruhi oleh kehadiran mikroba. Hal ini dipastikan dengan perbandingan terhadap struktur dan fungsi pada *germ-free animal*(GAC) yang tidak memiliki mikroorganisme tersebut.^{6,8}

Keberadaan binatang-bebas kuman menunjukkan bahwa mikroflora usus bukan sesuatu yang penting bagi pejamu untuk bertahan hidup. Tetapi, perbandingan dengan binatang konvensional menunjukkan populasi usus mempengaruhi proses fisiologis penting, termasuk pengaruhnya pada.⁸

- a. anatomi dan histologi saluran cerna. Binatang-bebas kuman memiliki caecum yang mengalami distensi dengan mukosa yang tipis dan kecepatan pembaharuan sel berkurang;
- b. kecepatan transit lebih rendah pada binatang-bebas kuman;
- c. biokimia usus besar. Binatang-bebas kuman kekurangan banyak enzim bakteri dan proses transformasi kimiawi yang dihasilkan oleh mikroflora, seperti produksi SCFA, metabolisme asam empedu, konversi bilirubin menjadi urobilinogen, konversi kolesterol menjadi coprostanol;
- d. modulasi aktivitas imun. Berbagai faktor dari fungsi makrofag dipengaruhi oleh mikroflora termasuk kemotaksis, fagositosis, produksi sitokin dan pembunuh intraseluler. Binatang-bebas kuman juga

mengalami pengurangan sel CD4+ dan sel yang memproduksi IgA di dalam lamina propria dan mukosa.

2.4.4 Resistensi Kolonisasi

Perubahan fisiologis dan imunologis yang telah disebutkan di atas merupakan bagian dari fenomena yang disebut resistensi kolonisasi, yang dapat didefinisikan sebagai kemampuan mikroorganisme yang dimiliki mikroflora usus normal untuk menghalangi implantasi patogen. Fungsi mikroflora ini juga dikenal sebagai efek *barier*. Resistensi non spesifik terhadap bakteri patogen diperantarai oleh mekanisme langsung dan tidak langsung.^{7,8}

Diantara mekanisme tak langsung resistensi kolonisasi adalah beberapa akibat dari fisiologi MAC. Contohnya, laju yang lebih cepat dimana pasase digestif melalui usus konvensional, bila dibandingkan binatang-bebas kuman, adalah penting dalam mencegah perkembangan patogen atau patogen potensial di dalam saluran cerna dengan cara efek *wash-out*. Sistem imun juga diketahui mengatur komposisi mikroflora. Contohnya, organisme yang kita dapat setelah lahir tampaknya menentukan keseimbangan mikroflora di umur kehidupan selanjutnya.⁸

Efek langsung mikroflora dalam resistensi kolonisasi terjadi ketika komunitas bakteri asli membuat suasana yang sangat sulit bagi organisme baru untuk berkembang. Contoh hal ini ditemukan tahun 1960-an. Ketika tikus kecil diberikan *Salmonella typhimurium* intragastrik, dosis letal bagi tikus-bebas kuman sekitar 100 juta kali lebih rendah dibanding tikus konvensional. Sayangnya, walau setelah beberapa dekade, mekanisme langsung yang membuat sulitnya organisme eksogen untuk berkembang di dalam ekosistem ini masih belum jelas. Secara umum, empat mekanisme dapat dipertimbangkan.^{7,8}

- a. **Kompetisi:** dua atau lebih tipe mikroba berada dalam keadaan bersaing untuk suatu faktor di dalam ekosistem yang tidak dapat memenuhi kebutuhan semua organisme dalam jumlah cukup. Hal ini dapat berupa kompetisi terhadap nutrisi, tempat, dan lain-lain. Contohnya, saluran cerna bagian atas dari seekor tikus memiliki populasi *Lactobacilli* yang besar yang hidup di dalam lapisan adheren dipermukaan epitel nonsekresi (sekitar 10^{8-9} per gram epitel). Pemberian 0,3 g/l penisilin di dalam minuman tikus konvensional akan mengusir *Lactobacilli* dari tempat ini, selanjutnya sel jamur tumbuh (*Candida*), yang normalnya terbatas di dalam korpus, menjadi mengkoloni pula di saluran cerna atas.
- b. **Amensalisme:** penghambatan satu atau lebih tipe mikroba oleh produksi substansi toksik tipe mikroba yang lain. Contoh yang baik adalah asam lemak rantai pendek yang diproduksi oleh bakteri anaerobik obligat menghambat populasi anaerob fakultatif dan bakteri patogen seperti *Salmonella* di dalam kondisi pH dan Eh yang tepat.
- c. **Predasi:** satu tipe mikroba memakan lainnya, tipe yang lebih kecil. Protozoa dapat mengingesti dan mendigesti sel bakteri, terutama di dalam lumen, walaupun mekanisme ini tampaknya bukan faktor utama pada binatang monogastrik.
- d. **Parasitisme:** satu tipe mikroba memakan tipe yang lebih besar. Bakteriofag menginfeksi bakteri dapat merupakan hal penting tetapi tidak ada contoh yang baik dari relevansi ini di dalam literatur mikroflora usus manusia.

2.4.5 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Mikroflora

Kemampuan mikroorganisme untuk bertahan hidup dalam lumen saluran cerna ditentukan oleh sifat dari mikroorganisme itu sendiri, faktor dari pejamu, dan kondisi lingkungan.

1. Sifat Mikroorganisme

Mikroorganisme mendapatkan energi dengan tiga mekanisme dasar: fermentasi, respirasi, dan fotosintesis. Pada bayi sehat, lebih kurang 8 % laktosa mencapai kolon. Pada keadaan malabsorpsi karbohidrat jumlahnya akan bertambah besar. Karbohidrat ini melalui peningkatan tekanan osmotik lumen kolon secara potensial dapat menimbulkan diare. Tetapi hal ini tidak terjadi, karena sekitar 2/3 dari karbohidrat ini akan diuraikan mikroflora kolon menjadi asam lemak rantai pendek (ALRP). Secara teoritis ALRP akan meningkatkan tekanan osmotik, tetapi karena dapat diserap mukosa kolon, akan menguntungkan dalam rangka konservasi energi. Sisa disakarida atau monosakarida 1/3 nya akan diubah mikroflora menjadi molekul makro, sehingga tidak menimbulkan beban osmotik. Mekanisme ini dinamakan penyelamatan kolon.²⁷

Peragian karbohidrat ini tergantung pH. Makin rendah pH makin rendah tingkat peragian, sehingga di satu titik mekanisme ini akan berhenti. Terdapat perkecualian pada bakteriasidofilik seperti *Lactobacillus* atau *Bifidobacterium* yang mempunyai jalur alternatif, yaitu meskipun pH turun mereka masih dapat melakukan fermentasi. Adanya bakteri tersebut menyebabkan komposisi mikroflora kolon menjadi lebih menguntungkan atau kurang berbahaya.^{27, 28}

2. Faktor Pejamu

Kecepatan pasase isi saluran cerna sangat berpengaruh terhadap jumlah kuman yang tumbuh dalam bagian usus tertentu. Pada usus halus, rongga usus seperti dibilas, sehingga jumlah kuman yang bersarang tidak sempat menjadi terlalu tinggi. Secara klinis diketahui terhambatnya mekanisme pembilasan, misalnya pada ileus merupakan salah satu penyebab tumbuh ganda mikroorganisme di usus halus.²⁷

Peristaltik dan sistem katup pada saluran cerna menjamin pasase oro-anal. Jika terjadi anti peristaltik, atau sistem katup tidak efektif, isi saluran cerna yang lebih distal dapat mencemari bagian yang lebih proksimal. Secara klinis kita menemukan kontaminasi usus halus oleh isi kolon jika valvula ileocaecal tidak berfungsi, misalnya pada reseksi daerah ileocaecal atau anastomose usus halus dengan kolon. Gejala yang ditimbulkannya dinamakan sindroma kontaminasi usus halus.²⁷

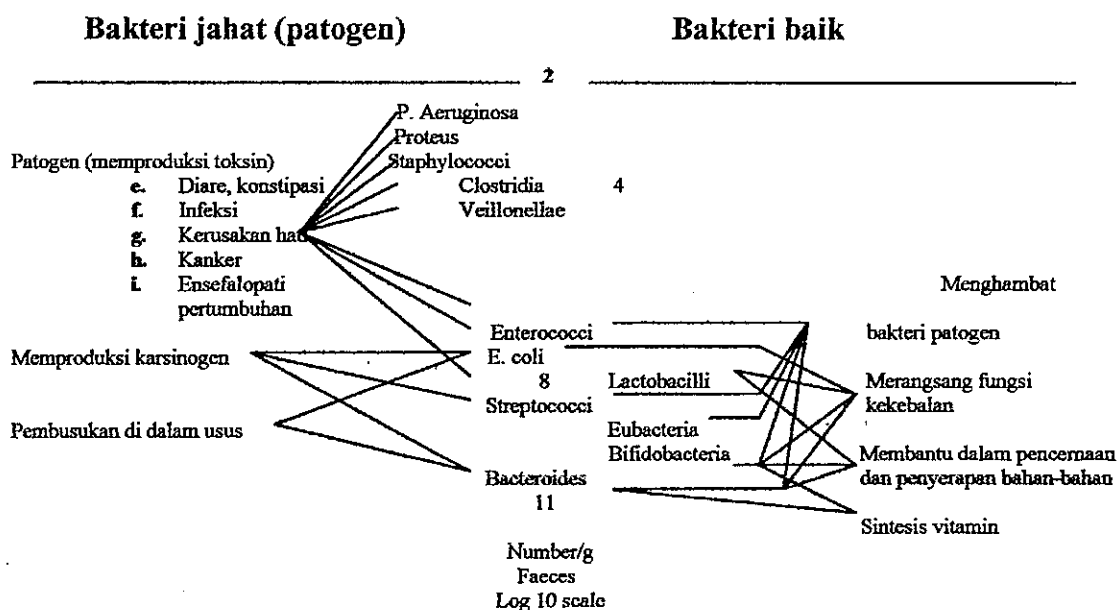
3. Kondisi Lingkungan

Berbagai zat di dalam saluran cerna dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu. Enzim, terutama enzim proteolitik, imunoglobulin, terutama IgA, dan sel imunokompeten, serta garam empedu dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme.^{8,27}

Antibiotik, baik yang diberikan secara oral maupun yang diberikan secara parenteral mempengaruhi komposisi mikroflora usus. Secara umum mikroorganisme yang sensitif akan dihambat, sedang mikroorganisme yang resisten akan mendapat kesempatan menggandakan pertumbuhannya. Bayi baru lahir yang mendapat antibiotika lebih dari tiga hari, mikroflora ususnya mengandung lebih banyak bakteri yang resisten terhadap aminoglikosida.^{8,27}

2.4.6 Jenis Mikroorganisme Mikroflora

Jenis mikroorganisme mikroflora usus lazim dikelompokkan menjadi mikroorganisme patogen, mikroorganisme potensial patogen (mikroorganisme oportunistik), serta mikroorganisme tidak patogen (komensal). Mikroorganisme patogen adalah mikroorganisme yang untuk tumbuhnya membutuhkan kondisi khusus. Mereka kalah bersaing dengan mikroflora normal, yang lebih mampu bertahan hidup dipermukaan mukosa usus. Untuk dapat menimbulkan infeksi dibutuhkan jumlah kuman tertentu yang dinamakan dosis infeksi. Bila terdapat gangguan keseimbangan faktor penentu komposisi mikroflora, dosis ini dapat menurun.^{8, 27}



Gambar 1. Bakteri yang baik dan yang jahat yang terdapat di dalam usus manusia (dimodifikasi dari Gibson GR dan MB Roberfroid, 1995)²⁹

Mikroorganisme potensial patogen adalah mikroorganisme yang kemampuannya untuk menimbulkan keadaan patologi rendah dan atau kemampuannya berinvansi lebih rendah. *C. difficile* serta toksinnya dapat ditemukan

pada bayi dan anak sehat. Manifestasi klinis baru muncul jika terjadi peningkatan jumlah, akibat penekanan jumlah mikroorganisme lain atau penurunan resistensi mukosa.²⁷

Mikroorganisme tidak patogen adalah mikroorganisme yang tidak menimbulkan penyakit. Mikroorganisme ini dapat mencegah pertumbuhan bakteri patogen, meningkatkan kekebalan tubuh, meningkatkan pencernaan dan penyerapan zat gizi, mensintesis vitamin, serta mengurangi masalah akibat pembentukan gas perut.^{27, 29}

2.5 Probiotik

Lebih dari 100 tahun yang lalu, Pasteur dan Joubert, mengamati bahwa ada interaksi antagonistik antara beberapa jenis bakteri, dan mengatakan bakteri non patogen dapat mengontrol bakteri patogen. Metchnikoff melakukan observasi yang menunjukkan produk fermentasi susu dapat menghentikan proses pembusukan dan menganjurkan konsumsi produk ini untuk memberikan efek proteksi. Saat ini penelitian diarahkan terhadap penemuan jenis-jenis bakteri spesifik sebagai probiotik dan pengembangan zat-zat yang meningkatkan pertumbuhan probiotik.^{9, 30}

2.5.1 Definisi

Ada banyak macam definisi probiotik yang dibuat, tapi yang banyak dipakai adalah yang dikemukakan oleh Fuller, yaitu bakteri hidup yang diberikan sebagai suplemen makanan yang mempunyai pengaruh yang menguntungkan terhadap kesehatan, baik pada manusia dan binatang dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora usus. Efek yang menguntungkan dari bakteri tersebut dapat mencegah dan mengobati kondisi patologis usus bila bakteri tersebut diberikan secara oral. Probiotik sering juga disebut sebagai *friendly colonizer* atau *friendly microorganismi*.^{7, 31}

Ciri-ciri bakteri yang diklasifikasikan sebagai probiotik adalah: 1) berasal dari manusia, 2) secara alami tidak patogen, 3) tahan terhadap kerusakan waktu *processing*, 4) tahan terhadap asam lambung dan empedu, 5) dapat melekat pada epitel usus, 6) mampu melakukan kolonisasi pada saluran gastrointestinal, 7) produksi substansi antimikrobal, 8) memodulasi respon imun terutama mukosa, 9) mempengaruhi aktifitas metabolik.^{7,31}

Prebiotik adalah *nondigestible food ingredient* yang menguntungkan manusia dengan menstimulasi pertumbuhan dan aktifitas satu atau sejumlah kecil bakteri di kolon. *Food ingredient* yang diklasifikasikan sebagai prebiotik, harus: 1) tidak dihidrolisis dan tidak diserap di bagian atas traktus gastrointestinal, 2) substrat yang selektif untuk satu atau sejumlah mikroflora komensal yang menguntungkan dalam kolon, jadi memicu pertumbuhan bakteri yang aktif melakukan metabolisme, 3) mampu merubah mikroflora kolon menjadi komposisi yang menguntungkan kesehatan.³¹

Kemungkinan yang lain untuk manajemen mikroflora adalah menggunakan sinbiotik, yaitu kombinasi probiotik dan prebiotik. Penambahan mikroorganisme hidup (probiotik) dan substrat (prebiotik) untuk pertumbuhan bakteri misalnya fruktooligosakarida (FOS) dengan *Bifidobacterium* atau laktitol dengan *Lactobacillus*. Keuntungan dari kombinasi ini adalah meningkatkan daya tahan hidup bakteri probiotik oleh karena substrat yang spesifik telah tersedia untuk fermentasi sehingga tubuh mendapat manfaat yang lebih sempurna dari kombinasi ini.³¹

2.5.2 Manfaat Probiotik

Probiotik telah dibuktikan efektif untuk pencegahan dan pengobatan terhadap bermacam-macam kelainan gastrointestinal, misalnya diare karena

penggunaan antibiotik yang berlebihan, diare karena infeksi bakteri maupun virus, *enteral feeding* diare, defisiensi sukrase isomaltase, bakteri tumbuh lampau, intoleransi laktosa, dan *irritable bowel syndrome*.^{31,32}

Bakteri probiotik yang sering digunakan untuk memperpendek diare adalah *Lactobacillus GG*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, dan *Enterococcus faecium*. Penggunaan *Lactobacillus GG* dan bakteri probiotik yang lain untuk pencegahan diare oleh bakteri maupun virus tidak terlalu kuat bila dibandingkan penggunaannya untuk memperpendek diare.³¹

Probiotik *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* menurunkan jumlah enzim-enzim mikroba feses seperti β -glukoronidase, β -glukosidase, nitroreduktase, dan urease, yang terkait dengan aktivasi metabolik dan karsinogen. Selain itu probiotik juga memiliki efek hipokolesterolemi. Beberapa penelitian tahun 1970 dan 1980 secara konsisten melaporkan penurunan 5-17% serum kolesterol setelah mengkonsumsi produk fermentasi susu selama 2-4 minggu.³⁰

2.5.3 Mekanisme Kerja Probiotik

a. Aspek Kompetisi

Mekanisme kerja probiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam mukosa usus belum sepenuhnya jelas tetapi beberapa laporan menunjukkan dengan cara kompetisi untuk mengadakan perlekatan dengan enterosit (sel epitel mukosa), enterosit yang telah jenuh dengan bakteri probiotik tidak dapat lagi mengadakan perlekatan dengan bakteri yang lain. Jadi dengan adanya bakteri probiotik di dalam mukosa usus dapat mencegah kolonisasi oleh bakteri patogen. Kemampuan adhesi bakteri probiotik dapat mengurangi atau menghambat adhesi bakteri lain misalnya *E. coli* dan *Salmonella* sehingga tak terjadi kolonisasi. Kolonisasi oleh bakteri probiotik

Lactobacillus GG menetap selama masih mengonsumsi bakteri tersebut dan akan berkurang dan menghilang dalam waktu 1 minggu setelah konsumsi bakteri probiotik dihentikan.^{31, 33}

Bernet, 1994 melaporkan bahwa strain *Lactobacillus* pada manusia mempunyai kemampuan melekat berbeda-beda pada sel epitel mukosa usus, dalam hal ini *enterocyte like Caco-2 cells* dan sel Goblet HT29-MTX. *Lactobacillus acidophyllus LA1* dan *LA3* mempunyai kemampuan melekat yang kuat tidak tergantung pada kalsium, sedangkan *Lactobacillus strain LA10* dan *LA18* kemampuan melekatnya rendah, kemampuan perlekatan tersebut dapat dihilangkan dengan adanya tripsin. Strain *LA1* mempunyai kemampuan untuk mencegah perlekatan *diarrhoeagenic E. coli (EPEC)* dan bakteri yang enteroinvasif *Salmonella typhimurium*, *Yersinia* dan tuberkulosis. Kemampuan mencegah perlekatan strain *LA1* lebih efektif bila diberikan sebelum atau bersamaan dengan *E. coli* daripada setelah infeksi *E. coli*.³¹

Lain dengan strain *Lactobacillus*, bakteri probiotik jenis *Bifidobacteria subspecies pennsylvanicum* adalah gram-positif, nonmotile, anaerob merupakan penghuni normal usus manusia dan mempunyai kemampuan perlekatan yang kuat terhadap epitel kolon melalui komponen *lipoteichoic acid (TTA)* yang dimilikinya. Perlekatan tersebut bersifat spesifik, reversibel, konsentrasi sel dan tergantung waktu. Dalam satu sel epitel saja terdapat banyak sekali reseptor untuk *LTA* yang dapat mencapai jumlah $8,3 \times 10^8$.³¹

Probiotik *Bifidobakteria* mempunyai kemampuan melekat pada enterosit mukosa usus bayi meskipun bayi prematur sehingga dapat menghambat kolonisasi sejumlah bakteri penyebab diare (*diarrheagenic bacteria*), misalnya *Eschericia coli 0157*, *Salmonella typhimurium* dan virus

(murine dan rhesus rotavirus), baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Penghambatan kolonisasi tersebut akan mencegah terjadinya *bacterial translocation* (penyebaran bakteri) ke dalam limfonodi mesenterium (MLN) sehingga penyebaran ke sistemik dapat dicegah.³¹

Probiotik *Lactobacillus salivarius* CTC2197 juga mempunyai kemampuan untuk mencegah kolonisasi bakteri *Salmonella enteritidis*, baik diberikan secara langsung yang dicampur dengan bakteri *Salmonella* atau dicampur dengan makanan dan minuman yang terpisah dengan inokulasi bakteri *Salmonella*.³¹

Disamping mekanisme perlekatan dengan reseptor pada epitel usus untuk mencegah pertumbuhan bakteri patogen melalui kompetisi, bakteri probiotik memberi manfaat pada pejamu oleh karena produksi substansi anti bakteri, misalnya asam organik, bakteriosin, mikrosin, reuterin, *volatile fatty acid*, hidrogen peroksid dan ion hidrogen.³¹

b. Aspek Stabilisasi Pelindung Mukosa

Epitel mukosa usus dan mikroflora usus normal merupakan barier mukosa terhadap bakteri patogen, antigen dan bahan-bahan yang merusak lumen usus. Dalam keadaan normal barier ini intak dan memberikan fungsi usus yang normal. Bila epitel sel atau mikroflora normal terganggu, terjadi peningkatan permeabilitas dengan akibat invasi/translokasi patogen, antigen asing dan bahan yang membahayakan. Barrier mukosa usus adalah organ pertahanan yang penting, merupakan barier terhadap antigen, *ofending agent* yang masuk melalui lumen usus dan kebanyakan antigen asing dapat dikeluarkan oleh barier mukosa. Pemberian bakteri probiotik (*Lactobacillus GG*) akan menekan reaksi inflamasi intestinal dan normalisasi permeabilitas

mukosa usus dan flora usus serta dapat memperbaiki barier imunologik, terutama respon SIgA.^{31, 33}

c. Aspek Imunologis

Mikrobiota usus dapat mempengaruhi sistem imun mukosa dan sistem imun sistemik, terhadap hampir semua sel imunokompeten dan sel *accessory*, sel epitel mukosa, lekosit, sel T dan sel B. Produk bakteri dengan sifat imunomodulator termasuk lipopolisakarida (LPS), peptidoglikan dan *lipoteichoic acid*. LTA yang dimiliki oleh *Bifidobakteria* mempunyai afinitas pengikatan yang tinggi terhadap membran sel epitel mukosa dan dapat bertindak sebagai pembawa antigen serta mengikatkan ke jaringan target sehingga dapat mengaktifasi makrofag untuk membangkitkan respon imun. Mikrobiota usus, *Laktobacillus*, *Enterococci* dan *slow-lactose fermenting coliform* sebagai flora komensal mempunyai kemampuan untuk membangkitkan respon imun mukosa yang terlihat dengan munculnya IgA plasmablas di lamina propria baik pada mencit-bebas kuman maupun mencit normal. Walaupun lebih lambat dalam membangkitkan respon imun mukosa pada mencit-bebas kuman ditemukan: 1) reaksi *germinal center* di *peyer's patches* (PP), terjadi pada hari ke 14-21 pasca kolonisasi yang akan mencapai normal pada hari ke-100, 2) produksi natural IgA oleh *gut associated lymphoid tissue* (GALT) hanya mencapai 34-87% dari mencit normal, 3) walaupun IgA spesifik terbentuk tetapi jumlahnya hanya mencapai 2,5% dari produksi total natural IgA.^{31, 33}

Probiotik *Lactobacillus GG* mempunyai kemampuan untuk meningkatkan imunitas mukosa intestinal. Terdapat peningkatan jumlah sel penghasil terutama IgA dan sel penghasil Ig lain. *Lactobacillus GG* juga

menstimulus pelepasan interferon lokal yang memfasilitasi transport antigen dan meningkatkan ambilan antigen oleh *Peyer's patches* dan dikatakan bahwa *Lactobacillus GG* dapat berfungsi sebagai adjuvan untuk vaksinasi peroral.³¹

Pada umumnya limfosit T dan sel NK pada mukosa selalu dalam keadaan teraktivasi dari pada yang terdapat di limfonodi perifer dan lien. Sel CD4 perifer yang mengekspresikan fenotip CD45RB^{high} yang menunjukkan *resting* (istirahat) atau *unprimed helper T cells*, demikian juga sel T CD8, sedangkan sel CD4 di PP mengekspresikan CD45RB^{low}, yang dicirikan sebagai sel yang teraktivasi. Limfosit intraepitelial banyak didominasi oleh sel NK dan CD8 yang aktif.³¹

CD4 di PP, CD8 dan sel NK di kompartemen intraepitelial pada binatang-bebas kuman dalam keadaan tidak aktif. Kolonisasi dengan probiotik secara gradual meskipun dalam beberapa bulan akan menyebabkan perubahan CD4 di PP dari CD45RB^{high} menjadi CD45RB^{low}, demikian juga sel CD8 dan sel NK. Jadi bakteri komensal mampu membangkitkan respon imun baik seluler maupun humoral lokal. Sel imunokompeten dan sel epitel usus dapat membedakan DNA sel prokariotik dengan sel DNA vertebra dengan cara deteksi *unmethylated CpG dinucleotides*. DNA yang mengandung CpG motif dapat memicu baik respon imun alami (*innate*) dan respon imun didapat (*adaptive*), melalui mekanisme *down regulation* dari sitokin proinflamasi (IFN γ , IL-1) yang dimediasi oleh penghambatan *NF- κ B signal pathway*.³¹

2.5.4 Cara Penggunaan Probiotik

Untuk tujuan normalisasi mikroflora usus pemberian bakteri probiotik dapat berupa: 1) sediaan murni bakteri probiotik, 2) makanan yang mengandung probiotik, 3) formula susu bayi yang ditambahkan bakteri probiotik.³¹

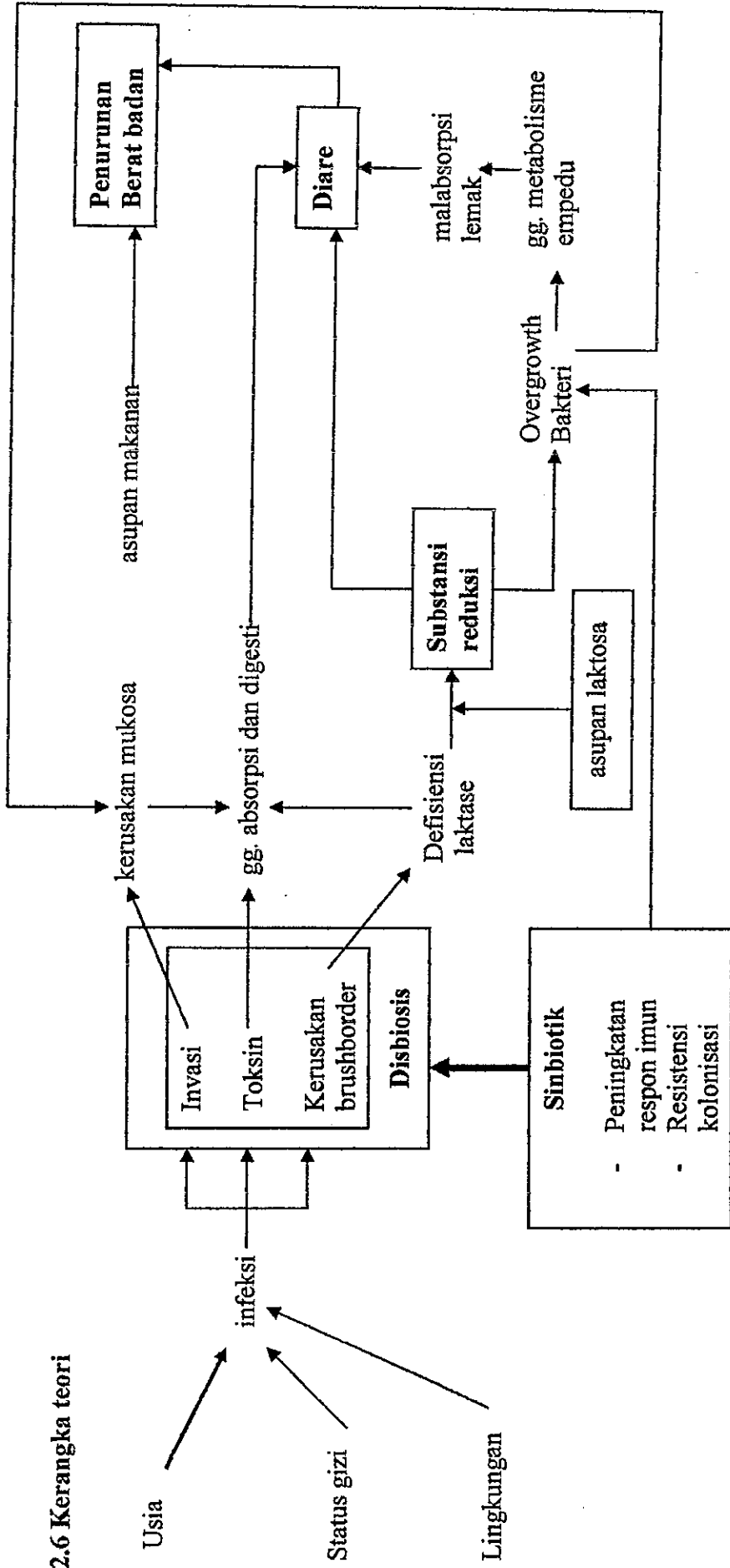
Dosis yang optimal, cara pemberian, dan lama pemberian probiotik masih belum ada standarisasi penggunaannya. Beberapa peneliti menganjurkan pemberian probiotik 2 kali sehari selama 5 hari untuk tambahan pengobatan diare pada anak, tetapi Oberhelman memberikan dengan dosis $3,7 \times 10^{10}$ colony forming unit sekali sehari selama 1 minggu. Pemberian dengan dosis sekali sehari dinilai tidak optimal, mungkin dengan dosis lebih rendah tetapi lebih sering akan memberikan hasil yang lebih baik.^{10,31}

Makanan yang mengandung bakteri probiotik terdapat dalam bentuk produk fermentasi susu (*fermented milk product*) berisi *Lactobacillus GG* 10^{10-11} colony forming unit dalam 125 gram bahan diberikan selama 5 hari untuk tujuan pengobatan diare. Tetapi kebanyakan produk fermentasi susu yang beredar di pasaran tidak mencantumkan jumlah bakteri probiotik per gram, demikian juga jumlah yang dianjurkan.³¹

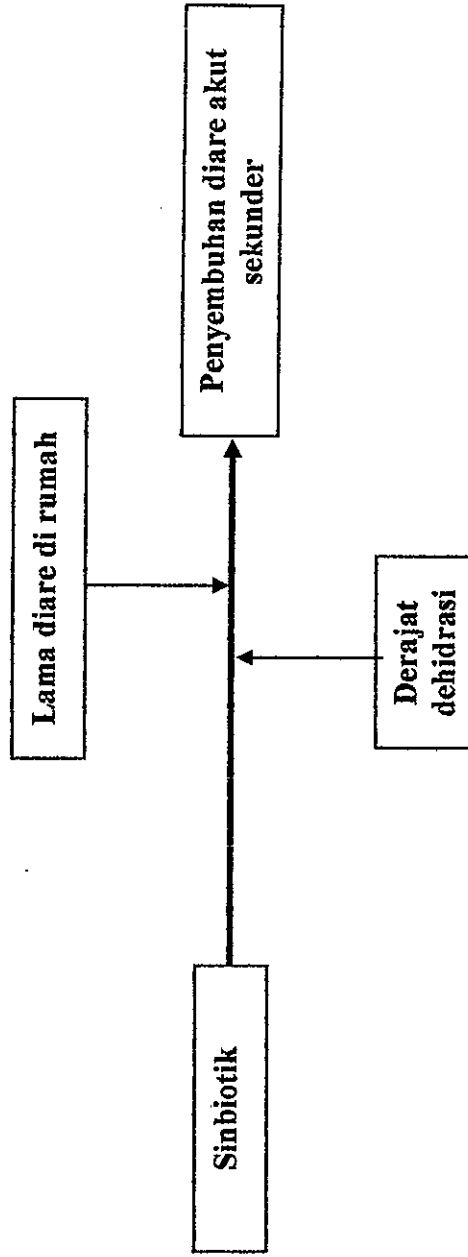
Banyak macam produk formula susu bayi yang ditambahkan bakteri probiotik *Lactobacillus* atau *Bifidobacteria* tetapi tidak dicantumkan jumlah cfu per gram susu bubuk kering, tetapi yang ditonjolkan manfaat untuk memelihara keseimbangan mikroflora usus untuk menjamin kesehatan.³¹

Penderita yang mengkonsumsi bakteri probiotik dalam tinjanya ditemukan bakteri tersebut selama masih mengkonsumsinya. Beberapa minggu setelah menghentikan pemberian bakteri probiotik, bakteri tersebut baru hilang dari tinja.³¹

2.6 Kerangka teori



2.7 Kerangka konsep penelitian



BAB 3

HIPOTESIS

Hipotesis mayor:

Sinbiotik mempercepat penyembuhan diare akut dengan intoleransi laktosa sekunder

Hipotesis minor:

1. Sinbiotik memperpendek lama diare penderita diare dengan intoleransi laktosa sekunder dibandingkan kontrol
2. Sinbiotik mengurangi berat feses penderita diare dengan intoleransi laktosa sekunder dibandingkan kontrol
3. Sinbiotik mempercepat konversi tes reduksi penderita diare dengan intoleransi laktosa sekunder dibandingkan kontrol
4. Sinbiotik mempercepat kenaikan berat badan penderita diare dengan intoleransi laktosa sekunder dibandingkan kontrol

BAB 4

METODOLOGI

4.1 Ruang Lingkup

Penelitian ini dilakukan selama enam bulan di sub bagian gastroenterologi, bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Rumah Sakit Dr Kariadi Semarang pada populasi penderita diare akut yang dirawat.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Penelitian

- (1) Populasi target adalah penderita diare akut dengan intoleransi laktosa sekunder usia 1 sampai 24 bulan.
- (2) Populasi terjangkau adalah penderita diare akut dengan intoleransi laktosa sekunder usia 1 sampai 24 bulan yang dirawat di bangsal anak RS Dr. Kariadi Semarang

4.2.2 Sampel Penelitian

(1) Besar Sampel

Besar sampel ditentukan berdasarkan uji hipotesis terhadap rerata dua populasi dengan rumus: $n_1 = n_2 = 2[(z_\alpha + z_\beta)s / (x_1 - x_2)]^2$

Dimana: n = jumlah sampel

α = tingkat kemaknaan, $\alpha = 0,05 \longrightarrow z_\alpha = 1,960$

$1 - \beta$ = power, $\beta = 0.2 \longrightarrow z_\beta = 0,842$

s = simpang baku pada kedua kelompok

$(x_1 - x_2)$ = perbedaan klinis yang diinginkan

Pada penelitian sebelumnya didapatkan rata-rata lama diare 1,5 hari pada kelompok yang mendapat probiotik dan 2.5 hari pada kelompok yang mendapat plasebo, dengan simpang baku 1,1. Bila ketepatan perbedaan lama diare antara kedua kelompok sebesar 1 hari dan dikehendaki tingkat kepercayaan sebesar 95% maka jumlah sampel dapat dihitung sebagai berikut.^{12,34}

$$n_1 = n_2 = 2[(1,96 + 0,842)1,1 / 1]^2 \Rightarrow n = 18$$

Jumlah sampel minimal setelah dikoreksi kemungkinan drop out 10 % adalah 20 orang untuk masing-masing kelompok.

(2) Cara Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel secara konsekutif. Penderita diare yang memenuhi kriteria inklusi dimasukkan dalam penelitian. Kemudian secara acak dan tersamar ganda dialokasikan menjadi kelompok perlakuan dan kontrol. Kelompok perlakuan adalah kelompok yang mendapat sinbiotik.

4.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

4.3.1 Kriteria Inklusi

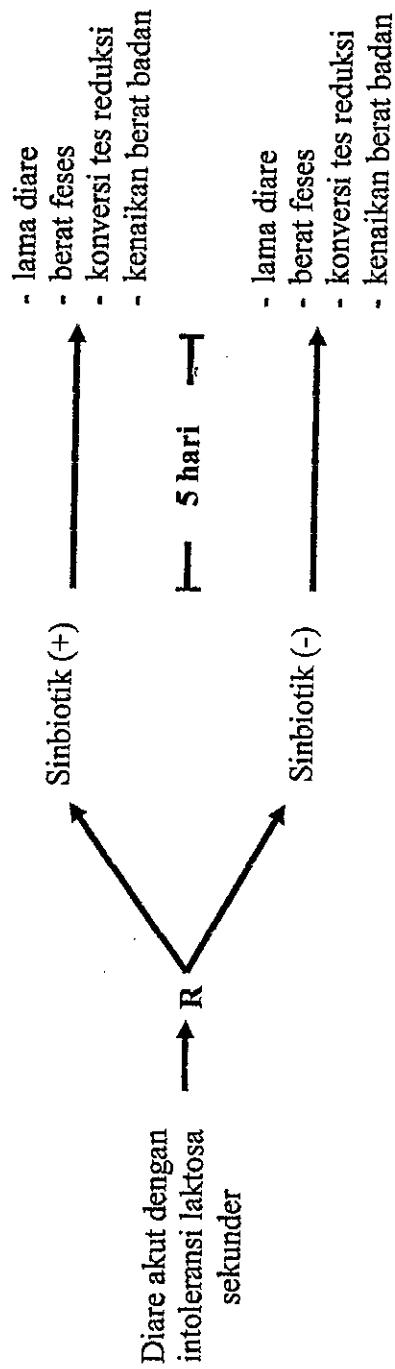
1. Umur 1 sampai 24 bulan
2. Diare akut dengan intoleransi laktosa sekunder
3. Diare akut dehidrasi ringan sedang
4. Tidak disertai penyakit lain yang berat
5. Orang tua menyetujui anaknya ikut dalam penelitian

4.3.2 Kriteria Eksklusi

1. Menjadi diare kronik
2. Menjadi dehidrasi berat
3. *Drop out*

4.4 Alur Penelitian

Jenis penelitian adalah eksperimental murni berupa uji klinik secara kendali acak tersamar ganda.



Sinbiotik (+) : Pemberian sinbiotik

Sinbiotik (-) : Pemberian *saccharum lactis*

R : Randomisasi perlakuan

4.5 Bahan dan Alat

4.5.1 Bahan

Sinbiotik (campuran *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Fructo-oligosaccharide*) diberikan 1 x 1 kapsul yang dicampur makanan dan minuman, selama lima hari pada kelompok perlakuan. Sedangkan kelompok kontrol diberikan kapsul yang berisi *saccharum lactis* dalam kemasan yang sama dengan kelompok perlakuan.

4.5.2 Alat-alat

(1) Pengukur berat badan

Memakai timbangan bayi digital merk Terrailon®. Penimbangan dilakukan dengan posisi berbaring atau duduk tanpa pakaian. Penimbangan dilakukan oleh seorang petugas. Pembacaan berat badan dalam gram dengan kepekaan 5 gram.

(2) Timbangan feses

Memakai timbangan roti merk Lion Star®. Feses dimasukkan dalam kantong plastik. Pembacaan berat feses dalam gram dengan kepekaan 10 gram.

(3) Penduga dubur

Alat terbuat dari karet berbentuk slang berbagai ukuran yang dapat dimasukkan ke dalam dubur guna menampung feses. Alat ini di pasang menetap dengan plester, diganti setiap pagi dan sore, serta dilepas bila konsistensi feses telah memadat sehingga tidak memungkinkan feses

mengalir. Di ujung penduga dubur dipasang kantong plastik guna menampung feses.

4.6 Variabel penelitian

(1) Variabel bebas

- a. pemberian sinbiotik

(2) Variabel tergantung adalah penyembuhan diare yang diukur dengan:

- a. lama diare
- b. berat feses
- c. konversi tes reduksi
- d. Kenaikan berat badan

(3) Variabel pengganggu

- a. lama diare di rumah
- b. derajat dehidrasi

4.7 Pengendalian variabel pengganggu

Variabel lama diare di rumah akan dianalisis dulu untuk melihat apakah ada perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kontrol. Bila ada perbedaan akan dilakukan analisis statistik untuk mengendalikan variabel ini. Sedangkan variabel derajat dehidrasi dikendalikan dengan kriteria inklusi.

4.8 Cara Kerja

- (1) Sebelum melakukan penelitian dimintakan ijin *Ethical clearance* dari Komisi Etika Fakultas Kedokteran Undip/RSDK

- (2) Sebelum melakukan penelitian dimintakan izin yang disetujui oleh komite medik Rumah sakit Dr Kariadi Semarang.
- (3) Sebelum memasukkan seseorang ke dalam penelitian dimintakan persetujuan dari orang tua atau walinya (*informed consent*). Penderita yang telah memenuhi syarat tersebut ikut dalam penelitian.
- (4) Penderita dibagi secara acak dengan komputer menjadi dua kelompok (sinbiotik dan kontrol).
- (5) Pemberian sinbiotik dan plasebo diberikan oleh seorang petugas dalam kemasan yang sama secara tersamar ganda.
- (6) Anamnesis keluhan utama dan keluhan penyerta, perjalanan penyakit dan pengobatan yang telah diberikan. Hasil anamnesis dicatat dalam formulir penelitian.
- (7) Dilakukan pengukuran antropometri, pemeriksaan tanda-tanda vital, derajat dehidrasi dan penyakit penyerta lainnya saat penderita mulai dirawat.
- (8) Pada saat masuk dilakukan pengambilan sampel feses, darah, dan urin untuk dilakukan pemeriksaan laboratorium rutin sederhana.
- (9) Pemeriksaan tes reduksi dilakukan pada hari pertama dan setiap hari selama feses masih cair dengan menggunakan tes Benedict.³⁵ Tidak dilakukan pemeriksaan dengan tablet *clinitest* karena tablet tersebut sudah tidak beredar lagi di pasaran.
- (10) Dilakukan penimbangan berat feses setiap jam 06.00 oleh seorang petugas.
- (11) Penimbangan berat badan dilakukan setiap hari pada jam yang sama.
- (11) Terapi rehidrasi dan nutrisi dilakukan sesuai protap yang ada.
- (12) Cara pemberian perlakuan secara acak tersamar ganda.

4.9 Keterbatasan penelitian

1. Asupan gizi dan cairan tidak dihitung dan dipakai dalam analisis
2. Berat feses diukur setiap jam 06.00, padahal penderita masuk rumah sakit dalam jam yang berbeda.

4.10 Etika penelitian

1. *Ethical clearence* didapatkan dari Komisi Etika Penelitian Fakultas Kedokteran UNDIP/RS Dr. Kariadi Semarang sebelum penelitian dilakukan
2. Setiap sampel yang diteliti dimintakan persetujuan (*informed consent*)
3. Kepentingan penderita tetap diutamakan
4. Setiap efek samping dari penelitian merupakan tanggung jawab peneliti

4.11 Cara Pengolahan Data

Data dianalisis menggunakan komputer dengan program SPSS 11.5

- (1) Perbandingan proporsi untuk membandingkan proporsi jenis kelamin, status gizi, dan konversi tes reduksi dengan menggunakan uji Chi-Square atau Fisher's-Exact
- (2) Uji beda rerata untuk membandingkan rata-rata usia, lama diare, berat feses, dan kenaikan berat badan dengan menggunakan uji t atau Mann-Whitney
- (3) Perbedaan antara dua kelompok bermakna bila $p < 0,05$ dengan derajat kepercayaan 95 %

4.12 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Satuan	Skala
1.	Diare akut dengan intoleransi laktosa sekunder	Diare cair, voluminous, tiga kali atau lebih dalam satu hari, dengan tes reduksi +1 atau lebih disertai perut kembung dan adanya ekskoriiasi pada kulit sekitar anus	-	nominal
3.	Pemberian sinbiotik	Pemberian sinbiotik (campuran <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , dan <i>Fructo-oligosaccharide</i>) 1 x 1 kapsul yang dicampur makanan dan minuman, selama lima hari pada kelompok perlakuan	-	nominal
2.	Lama diare	Waktu mulai masuk rumah sakit sampai konsistensi feses menjadi lembek	jam	interval
3.	Berat feses	Berat feses yang keluar dalam satu hari ditimbang tiap jam 06.00 pagi	gram	rasio
4.	Konversi tes reduksi	Perubahan tes reduksi dari positif menjadi negatif yang diuji setiap hari selama feses masih cair	Biru (-) Coklat (+) Kuning (++) Oranye (+++) Merah bata (++++)	ordinal
5.	Kenaikan berat badan	Selisih berat badan masuk dan sewaktu pulang	gram	rasio
6.	Lama diare di rumah	Waktu mulai diare di rumah sampai masuk rumah sakit	jam	interval
7.	Derajat dehidrasi	Derajat dehidrasi menurut WHO	tanpa tanda dehidrasi, dehidrasi ringan sedang, dan dehidrasi berat	ordinal

BAB 5

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini diikuti oleh 40 orang anak diare akut dengan intoleransi laktosa sekunder. Dari 40 orang anak, 20 orang merupakan kelompok perlakuan dan 20 orang kelompok kontrol. Adapun karakteristik umum penderita ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik umum penderita

Karakteristik	Nilai
Umur (bulan); ($\bar{x} \pm SB$)	10,4 \pm 4,71
Jenis kelamin; n (%)	
• Laki-laki	26 (65)
• Perempuan	14 (35)
Status gizi saat masuk RS; n (%)	
• Baik	31 (77,5)
• Gizi kurang	9 (22,5)

Dari Tabel 2 tampak jumlah laki-laki lebih banyak daripada perempuan dan sebagian besar penderita merupakan gizi baik.

Tabel 3. Uji beda rerata umur, berat badan saat masuk RS, dan lama diare di rumah antara kelompok perlakuan dan kontrol

Karakteristik	Perlakuan $\bar{x} \pm SB$	Kontrol $\bar{x} \pm SB$	t/Z	p
Umur (bulan)	9,5 \pm 4,35	11,4 \pm 4,99	-	0,20*
Berat badan saat masuk RS (gram)	7417,5 \pm 1479,36	7689,25 \pm 1243,77	1,284	0,50*
Lama diare di rumah (jam)	50,4 \pm 32,01	47,6 \pm 27,76	0,629	0,84*

*uji t *uji Mann-Whitney

Tabel 4. Uji beda proporsi jenis kelamin dan status gizi antara kelompok perlakuan dan kontrol

Karakteristik	Perlakuan	Kontrol	X ²	p
Jenis kelamin; n (%)				
• Laki-laki	14 (35)	12 (30)		
• Perempuan	6 (15)	8 (20)	0,440	0,50 [#]
Status gizi saat masuk RS; n (%)				
• Baik	15 (37,5)	16 (40)		
• Gizi kurang	5 (12,5)	4 (10)	0,143	1,00 [†]

[#] uji Chi-Square [†] uji Fisher's Exact

Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa rerata umur penderita kelompok perlakuan lebih muda dibanding kelompok kontrol, akan tetapi secara statistik perbedaan tersebut tidak bermakna ($p=0,2$). Pada Tabel 4 juga tampak bahwa jumlah anak laki-laki pada kelompok perlakuan lebih banyak daripada kelompok kontrol, tetapi tidak ada perbedaan yang bermakna secara statistik ($p=0,5$). Tidak ada perbedaan yang bermakna pada berat badan ($p=0,5$) dan status gizi saat masuk RS ($p=1$). Pada Tabel 3 juga tampak tidak ada perbedaan yang bermakna pada lama diare dirumah antara kelompok perlakuan dan kontrol ($p=0,84$)

Tabel 5. Uji beda rerata lama diare di RS antara kelompok perlakuan dan kontrol

Lama diare (jam)	Perlakuan x ± SB	Kontrol x ± SB	Z	p*
RS	32 ± 20,7	59,45 ± 28,2	3,411	0,001

*uji Mann-Whitney

Tabel 6. Uji beda rerata berat feses antara kelompok perlakuan dan kontrol berdasarkan hari

Berat feses (gram)	Perlakuan x ± SB	Kontrol x ± SB	Z	p*
Hari I	178 ± 90,4	233,5 ± 165,1	-1,762	0,08
Hari II	170 ± 73,2	239,5 ± 234,7	-0,846	0,39
Hari III	206,25 ± 135,5	115,38 ± 151,4	-1,782	0,08
Hari IV	142,5 ± 174,8	130 ± 127,7	0	1,00
Hari V	140 ± 0	35 ± 21,2	-1,225	0,22

*uji Mann-Whitney

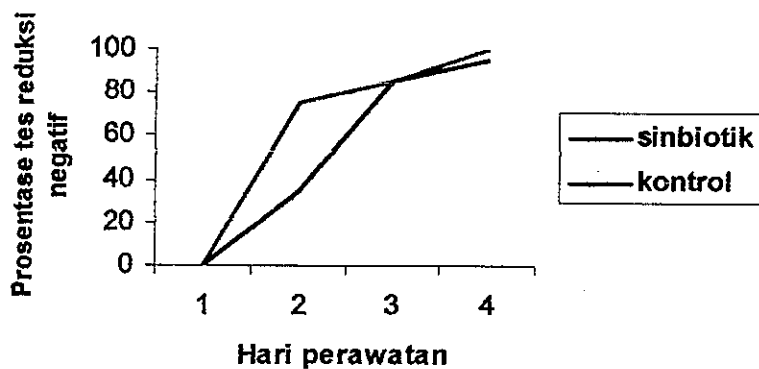
Pada Tabel 5 tampak ada perbedaan yang bermakna pada lama diare selama perawatan antara kelompok perlakuan dan kontrol ($p=0,001$). Sedangkan pada Tabel 6 tampak berat feses hari I-V tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,08$, $p=0,39$, $p=0,08$, $p=1,00$, $p=0,22$)

Tabel 7. Uji beda proporsi tes reduksi antara kelompok perlakuan dan kontrol

Reduksi	Perlakuan	Kontrol	X^2	p^*
Hari II; n (%)				
• (+)	5 (12,5)	13 (32,5)	6,465	0,011
• (-)	15 (37,5)	7 (17,5)		
Hari III; n (%)				
• (+)	3 (7,5)	3 (7,5)	0	1,00
• (-)	17 (42,5)	17 (42,5)		
Hari IV; n (%)				
• (+)	0 (0)	1 (2,5)	1,026	1,00
• (-)	20 (50)	19 (47,5)		

*Chi-Square

Pada Tabel 7 tampak ada perbedaan yang bermakna pada hasil tes reduksi hari II ($p=0,011$), walaupun pada hasil tes reduksi hari III dan IV tidak bermakna. Hal ini menunjukkan adanya kecenderungan kelompok perlakuan mengalami konversi tes reduksi yang lebih cepat dibandingkan kontrol (gambar 2).



Gambar 2. Prosentase tes reduksi negatif

Tabel 8. Uji beda rerata kenaikan berat badan antara kelompok perlakuan dan kontrol

Kenaikan BB (gram)	Perlakuan $x \pm SB$	Kontrol $x \pm SB$	Z	p*
Selama perawatan	104,5 ± 109,4	143,25 ± 211,9	- 0,72	0,47

*uji Mann-Whitney

Sedangkan pada Tabel 8 tampak kenaikan berat badan tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kontrol ($p=0,47$).

BAB 6

PEMBAHASAN

Rerata umur penderita dalam penelitian ini 10,4 bulan dengan usia termuda 2 bulan dan tertua 20 bulan. Hal ini sesuai dengan survey angka kesakitan diare oleh Depkes (2000) yang menunjukkan kelompok umur 5-14 bulan merupakan kelompok tertinggi penderita diare. Hal ini banyak dikaitkan dengan sistem imunologik intestinal dan kemampuan cadangan regenerasi sel epitel usus disamping fungsi organ lain yang masih terbatas pada bayi.^{18,36}

Sedangkan proporsi penderita laki-laki lebih tinggi daripada perempuan. Rashidul (2003) dalam penelitiannya di Bangladesh juga menunjukkan hasil yang sama. Penjelasan tentang hal ini masih belum diketahui.³⁷

Salah satu usaha manajemen mikroflora usus dengan menggunakan sinbiotik, yaitu kombinasi probiotik dan prebiotik (kombinasi *Bifidobacterium* dan fruktooligosakarida atau *Lactobacillus* dan laktitol). Keuntungan dari kombinasi ini adalah meningkatkan daya tahan hidup bakteri probiotik oleh karena substrat yang spesifik telah tersedia untuk fermentasi sehingga tubuh mendapat manfaat yang lebih sempurna dari kombinasi ini.³¹

Pada penelitian ini digunakan sinbiotik yang terdiri dari: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei sub sp. Casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus*, dan Frukto-oligosakarida (FOS). Dalam studi ini kelompok perlakuan yang mendapatkan sinbiotik menunjukkan lama diare yang lebih pendek dari pada kontrol ($32 \pm 20,7$ jam dan $59,45 \pm 28,2$ jam, $p=0,001$). Penelitian La Rosa tahun 2003, menunjukkan perbedaan lama diare antara kelompok

perlakuan dan kontrol (0,7 hari dan 1,6 hari, $p=0,002$). Dalam studi ini digunakan kombinasi *Lactobacillus sporogens* dan FOS selama 10 hari³⁸. Penelitian Shornikova tahun 1997, menunjukkan perbedaan yang bermakna dalam lamanya diare pada kelompok yang mendapatkan *Lactobacillus rhamnosus GG* selama 5 hari³⁹. Penelitian Simakachorn tahun 2000 dengan menggunakan *Lactobacillus acidophilus* menunjukkan perbedaan dalam lamanya diare pada kelompok perlakuan⁴⁰. Sedangkan penggunaan kombinasi *Bifidobacterium bifidum* dan *Streptococcus thermophilus* dalam satu penelitian klinik acak menunjukan penurunan insidens diare rotavirus pada kelompok perlakuan (10 % dan 38 %, $p=0,02$)⁴¹. Efek sinbiotik dalam mengurangi lama diare dalam penelitian ini tampaknya tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya.

Mekanisme kerja probiotik dalam pencegahan atau pengobatan diare dapat dikelompokkan dalam tiga bagian yaitu: kompetisi, stabilisasi *barrier* mukosa, dan imunologis. Cara kerja probiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam mukosa usus belum sepenuhnya jelas tetapi beberapa laporan menunjukkan dengan cara kompetisi untuk mengadakan perlekatan dengan enterosit (sel epitel mukosa), enterosit yang telah jenuh dengan bakteri probiotik tidak dapat lagi mengadakan perlekatan dengan bakteri yang lain. Jadi dengan adanya bakteri probiotik di dalam mukosa usus dapat mencegah kolonisasi oleh bakteri patogen.^{31,33}

Bernet, 1994 melaporkan bahwa strain *Lactobacillus* pada manusia mempunyai kemampuan melekat berbeda-beda pada sel epitel mukosa usus, dalam hal ini *enterocyte like Caco-2 cells* dan sel Goblet HT29-MTX. *Lactobacillus acidophyllus LA1* dan *LA3* mempunyai kemampuan melekat yang kuat tidak tergantung pada kalsium, sedangkan *Lactobacillus strain LA10* dan *LA18*

kemampuan melekatnya rendah, kemampuan perlekatan tersebut dapat dihilangkan dengan adanya tripsin. Strain LAI mempunyai kemampuan untuk mencegah perlekatan *diarrhoeagenic E. coli (EPEC)* dan bakteri yang enteroinvasif *Salmonella typhimurium*, *Yersinia* dan tuberkulosis. Kemampuan mencegah perlekatan strain LAI lebih efektif bila diberikan sebelum atau bersamaan dengan *E. coli* daripada setelah infeksi *E. coli*.^{7,31}

Bifidobacteria subspecies pennsylvanicum adalah gram-positif, nonmotile, anaerob merupakan penghuni normal usus manusia dan mempunyai kemampuan perlekatan yang kuat terhadap epitel kolon melalui komponen *lipoteichoic acid* (TTA) yang dimilikinya. Perlekatan tersebut bersifat spesifik, reversibel, konsentrasi sel dan tergantung waktu. Dalam satu sel epitel saja terdapat banyak sekali reseptor untuk LTA yang dapat mencapai jumlah $8,3 \times 10^8$.^{8 31}

Disamping mekanisme perlekatan dengan reseptor pada epitel usus untuk mencegah pertumbuhan bakteri patogen melalui kompetisi, bakteri probiotik memberi manfaat pada pejamu oleh karena produksi substansi anti bakteri, misalnya asam organik, bakteriosin, mikrosin, reuterin, *volatile fatty acid*, hidrogen peroksid dan ion hidrogen.^{7,31}

Epitel mukosa usus dan mikroflora usus normal merupakan barrier mukosa terhadap bakteri patogen, antigen dan bahan-bahan yang merusak lumen usus. Dalam keadaan normal *barier* ini intak dan memberikan fungsi usus yang normal. Bila epitel sel atau mikroflora normal terganggu, terjadi peningkatan permeabilitas dengan akibat invasi/translokasi patogen, antigen asing dan bahan yang membahayakan. Barrier mukosa usus adalah organ pertahanan yang penting, merupakan *barier* terhadap antigen, *ofending agent* yang masuk melalui lumen usus dan kebanyakan antigen asing dapat dikeluarkan oleh barrier mukosa. Pemberian

bakteri probiotik (*Lactobacillus GG*) akan menekan reaksi inflamasi intestinal dan normalisasi permeabilitas mukosa usus dan flora usus serta dapat memperbaiki barier imunologik, terutama respon SIgA.^{7,31}

Mikrobiota usus dapat mempengaruhi sistem imun mukosa dan sistem imun sistemik, terhadap hampir semua sel imunokompeten dan sel *accessory*, sel epitel mukosa, leukosit, sel T dan sel B. Produk bakteri dengan sifat imunomodulator termasuk lipopolisakarida (LPS), peptidoglikan dan *lipoteichoic acid*. LTA yang dimiliki oleh *Bifidobacteria* mempunyai afinitas pengikatan yang tinggi terhadap membran sel epitel mukosa dan dapat bertindak sebagai pembawa antigen serta mengikat ke jaringan target sehingga dapat mengaktifasi makrofag untuk membangkitkan respon imun. Mikrobiota usus, *Lactobacillus*, *Enterococci* dan *slow-lactose fermenting coliform* sebagai flora komensal mempunyai kemampuan untuk membangkitkan respon imun mukosa yang terlihat dengan munculnya IgA plasmablas di lamina propria baik pada mencit-bebas kuman maupun mencit normal. Walaupun lebih lambat dalam membangkitkan respon imun mukosa pada mencit-bebas kuman ditemukan: 1) reaksi *germinal center* di *peyer's patches* (PP), terjadi pada hari ke 14-21 pasca kolonisasi yang akan mencapai normal pada hari ke-100, 2) produksi natural IgA oleh *gut associated lymphoid tissue* (GALT) hanya mencapai 34-87% dari mencit normal, 3) walaupun IgA spesifik terbentuk tetapi jumlahnya hanya mencapai 2,5% dari produksi total natural IgA.^{7,31}

Probiotik *Lactobacillus GG* mempunyai kemampuan untuk meningkatkan imunitas mukosa intestinal. Terdapat peningkatan jumlah sel penghasil terutama IgA dan sel penghasil Ig lain. *Lactobacillus GG* juga menstimulus pelepasan interferon lokal yang memfasilitasi transport antigen dan meningkatkan ambilan

antigen oleh *Peyer's patches* dan dikatakan bahwa *Lactobacillus GG* dapat berfungsi sebagai ajuvan untuk vaksinasi peroral.³¹

Pada umumnya limfosit T dan sel NK pada mukosa selalu dalam keadaan teraktivasi dari pada yang terdapat di limfonodi perifer dan lien. Sel CD4 perifer yang mengekspresikan fenotip CD45RB^{high} yang menunjukkan *resting* (istirahat) atau *unprimed helper T cells*, demikian juga sel T CD8, sedangkan sel CD4 di PP mengekspresikan CD45RB^{low}, yang dicirikan sebagai sel yang teraktivasi. Limfosit intraepitelial banyak didominasi oleh sel NK dan CD8 yang aktif.^{7,31}

CD4 di PP, CD8 dan sel NK di kompartemen intraepitelial pada binatang-bebas kuman dalam keadaan tidak aktif. Kolonisasi dengan probiotik secara gradual meskipun dalam beberapa bulan akan menyebabkan perubahan CD4 di PP dari CD45RB^{high} menjadi CD45RB^{low}, demikian juga sel CD8 dan sel NK. Jadi bakteri komensal mampu membangkitkan respon imun baik seluler maupun humoral lokal. Sel imunokompeten dan sel epitel usus dapat membedakan DNA sel prokariotik dengan sel DNA vertebra dengan cara deteksi *unmethylated CpG dinucleotides*. DNA yang mengandung CpG motif dapat memicu baik respon imun alami (*innate*) dan respon imun didapat (*adaptive*), melalui mekanisme *down regulation* dari sitokin proinflamasi (IFN γ , IL-1) yang dimediasi oleh penghambatan *NF- κ B signal pathway*.^{7,31}

Pada penelitian ini didapatkan kecenderungan konversi tes reduksi yang lebih cepat pada kelompok perlakuan (gambar 2). Proporsi tes reduksi negatif pada hari kedua perawatan berbeda bermakna antara kedua kelompok. Studi yang dilakukan oleh Lin tahun 1991 menunjukkan perbaikan digesti laktosa setelah pemberian susu yang mengandung *Lactobacillus acidophilus* pada penderita dengan gangguan digesti laktosa⁴². Namun demikian sebagian besar penelitian menunjukkan

kurangnya efek probiotik terhadap digesti laktosa bila diberikan dalam bentuk kapsul, tablet, atau serbuk. Sedangkan pemberian probiotik dalam bentuk susu fermentasi dapat memperbaiki digesti laktosa. Hal ini dikarenakan enzim lactase tidak aktif dalam keadaan sangat asam. Sedangkan susu fermentasi berperan sebagai *buffer* yang melindungi bakteri dari asam lambung. Beberapa penelitian lain menunjukkan kemampuan prebiotik untuk meningkatkan mikroflora *Lactobacillus* yang akhirnya akan meningkatkan digesti laktosa⁴³. Sudarmo tahun 2004 menunjukkan pemberian sinbiotik dapat meningkatkan kecepatan pulihnya intoleransi laktosa pada penderita diare akut.⁴⁴

Berat feses selama perawatan antara kelompok perlakuan dan kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hal ini berbeda dengan Sudigbia (1997) yang menunjukkan perbedaan berat tinja antara kelompok probiotik dengan kontrol dalam penelitiannya yang menggunakan *Saccharomyces boulardii*¹⁵. Penelitian lain juga menunjukkan adanya perbedaan jumlah feses pada hari ke-10 perawatan antara kelompok probiotik (*Lactobacillus GG*) dan kontrol.¹¹

Sedangkan kenaikan berat badan antara kedua kelompok tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Dalam penelitian Sudigbia (1997) dengan *Saccharomyces boulardii* juga tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kontrol.¹⁵ Penelitian di Brazil tentang pengaruh suplementasi makanan dengan sinbiotik terhadap pertumbuhan, tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kontrol.⁴⁵ Tampaknya masih banyak faktor lain yang berpengaruh pada kenaikan berat badan anak dengan diare.

Ada beberapa keterbatasan dalam penelitian ini. Pertama, penelitian ini tidak menunjukkan gambaran agen penyebab diare baik virus maupun bakteri, sehingga

tidak dapat menggambarkan pengaruh spesifik sinbiotik terhadap masing-masing agen penyebab. Beberapa literatur menunjukkan spesifisitas probiotik terhadap agen penyebab diare, misalnya *Lactobacillus GG* untuk diare akibat virus dan *Saccharomyces boulardii* lebih efektif terhadap diare karena bakteri². Kedua, penelitian ini dilakukan pada penderita rawat inap, sehingga perlu dipertimbangkan aplikasinya pada penderita rawat jalan dengan kondisi yang berbeda. Pemberian sinbiotik pada penderita diare rawat jalan diharapkan dapat mencegah memburuknya diare dan menurunkan angka rawat inap karena diare. Ketiga, tidak dilakukan perhitungan terhadap asupan nutrisi, sehingga pengaruhnya terhadap berat feses dan kenaikan berat badan tidak diketahui.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

SIMPULAN

Anak diare dengan intoleransi laktosa sekunder yang diberi sinbiotik menunjukkan:

1. Pemendekan lama diare ($p=0,001$) dan percepatan konversi tes reduksi ($p=0,011$) dibanding kontrol.
2. Tidak ada perbedaan berat feses dan kenaikan berat badan dibanding kontrol.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian yang lebih spesifik pada agen penyebab diare untuk melihat pengaruh spesifik sinbiotik terhadap agen penyebab diare
2. Perlu dilakukan penelitian klinik acak yang lebih besar di komunitas untuk melihat efektifitas sinbiotik pada penderita diare rawat jalan
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan memperhitungkan asupan nutrisi

DAFTAR PUSTAKA

1. Ditjen PPM dan PLP Departemen Kesehatan RI. Buku Ajar Diare. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 1999:3-14
2. Widaya IW, Gandi. Konsistensi Pelaksanaan Program serta Morbiditas dan Mortalitas Diare di Era Otonomi dan Krisis. Dalam: Kongres Nasional II BKGAI. Bandung: BKGAI, 2003: 45-54
3. Sudigbia I. Gambaran Perubahan Mukosa Usus Pada Diare Anak. Makalah pada pertemuan ilmiah IDI cabang Magelang, 2000
4. Riedel BD, Ghishan FK. Acute Diarrhea. Dalam: Walker WA. Pediatric Gastrointestinal Disease. St. Louis: Mosby, 1996:251-60
5. Ramaswamy K, Jacobson K. Infectious Diarrhea in Children. *Gastroenterology Clinics* 2001:30
6. Elmer GW, McFarland LV. Biotherapeutic Agents in the Treatment of Infectious Diarrhea. *Gastroenterology Clinics* 2001:30
7. Sudarmo SM, Ranuh RG, Djupri LS, Suparto P. Peranan Prebiotik dan Probiotik Dalam Upaya Pencegahan Diare pada Anak. Dalam: Soegijanto S, dkk. *Pediatri Pencegahan Mutakhir I, Continuing Education Ilmu Kesehatan Anak*. Surabaya: FK Unair, 2000: 45-55
8. Wijnkoop IL, Hopkins M. The Intestinal Mikroflora: Understanding the Symbiosis. London: John Libbey Eurotext, 2003: 7-47
9. Markowitz JE, Bengmark S. Probiotics in Health and Disease in the Pediatric Patient. *Pediatr Clin North Am* 2002:49
10. Szajewska H, Kotowska M, Mrukowicz JZ, Arma'nska M, Mikołajczyk W. Efficacy of Lactobacillus GG in Prevention of Nosocomial Diarrhea in Infants. *J Pediatr* 2001;138:361-5
11. Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL, Hanner TL, Lupo JV, Young RJ. Lactobacillus GG in the Prevention of Antibiotic-associated Diarrhea in Children. *J Pediatr* 1999;135:564-8
12. Van Niel CW, Feudtner C, Garrison MM, Christakis DA. Lactobacillus Therapy for Acute Infectious Diarrhea in Children: A Meta-analysis. *Pediatrics* 2002:109

13. D'Souza AL, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt CJ. Probiotics in Prevention of Antibiotic Associated Diarrhoea: Meta-analysis. *BMJ* 2002; 324:1361
14. Oberhelman RA, Gilman RH, Sheen P, Taylor DN, et al. A Placebo-controlled Trial of Lactobacillus GG to Prevent Diarrhea in Undernourished Peruvian Children. *J Pediatr* 1999;134:15-20
15. Sunaryo D. Pengaruh Saccharomyces Boulardii Pada Pengobatan Penderita Diare Akut Anak. Universitas Diponegoro, 1997: 2-48. Tesis
16. Sudigbia I. Pengaruh Suplementasi Tempe Terhadap Kecepatan Tumbuh Pada Penderita Diare Anak Umur 6-24 Bulan (disertasi). Semarang: Universitas Diponegoro;1990
17. Sudigbia I. Pengantar Diare Akut Anak. Semarang: Badan Penerbit FK UNDIP, 1991: 10-52
18. Soeparto P. Sumbangan dan Peran Kaum Profesional Dalam Mendukung Program Penyakit Saluran Cerna di Era Otonomi. Dalam: Kongres Nasional II. BKGAI. Bandung: BKGAI, 2003:17-27
19. Davidson GP. Viral Causes of Acute Diarrhea During Infancy and Childhood. Dalam: Lebenthal E. Textbook of Gastroenterology and Nutrition in Infancy. 2nd ed. New york: Raven Press, 1989:1107-1116
20. Ghishan FK. Secondary Enzyme Deficiencies. Dalam: Walker WA. Pediatric Gastrointestinal Disease. St. Louis: Mosby, 1996:786-90
21. Buller HA. Lactase-phlorizin Hydrolase: An Intestinal Disaccharidase, Biosynthesis, Structure, and Processing (dissertation). Amsterdam: Uneversiteit Van Amsterdam;1990
22. Vesa TH, Marteau P, Korpela R. Lactose Intolerance. *J Am Coll Nutr*, 1999;19:165-72
23. Frye RE. Lactosa Intolerance. *eMedicine Journal* 2001 (sitasi 17 Agustus 2002). Didapatkan dari: URL: <http://www.eMedicine.com>
24. Tabrez S, Roberts IM. Malabsorption and Malnutrition. *Primary Care: Clinics in Office Practice* 2001:28
25. Suharyono. Sindrom Malabsorpsi. Dalam: Suharyono, Boediarso A, Halimun EM. Gastroenterologi Anak Praktis. Jakarta: Balai penerbit FKUI, 1988:137-60

26. Castro-Rodriguez JA, Salazar-Lindo E, Leon-Barua R. Differentiation of Osmotic and Secretary Diarrhoea by Stool Carbohydrate and Osmolar Gap Measurements. *Arc Dis Child* 1997;77:201-5
27. Ismail R. Perkembangan Mikroflora Usus Neonatus. Dalam: Simposium Nasional Nefrologi anak VI dan Gastrohepatologi. Yogyakarta: IDAI, 1995: 45-57
28. Becker B, Fern EB. Nutrition Health and Well Being. Switzerland: Nestec, 1999: 21-33
29. Hermana H. Gizi dan Kesehatan Saluran Pencernaan pada Bayi dan Anak. Jakarta: Nestle, 2001: 31-4
30. Roberfroid MB. Prebiotics and Probiotics: Are They Functional Food?. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1682-7
31. Sudarmo SM. Peranan Probiotik dan Prebiotik Dalam Upaya Pencegahan dan Pengobatan Diare Pada Anak. Dalam: Kongres Nasional II BKGAI. Bandung: BKGAI, 2003: 115-131
32. Davidson GP, Butler RN. Probiotic in pediatric gastrointestinal disorders. *Curr Opin Pediatr* 2000;12:477-81
33. Reid G, Jass J, Sebulsky MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev* 2003;16:658-72
34. Madiyono , Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto SH. Perkiraan Besar Sampel. Dalam: Sastroasmoro S, Ismael S. Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis. Jakarta: Binarupa Aksara, 1995;187-212
35. Badan Koordinasi Gastroenterologi Anak Indonesia. Tatalaksana kasus diare bermasalah. Jakarta: BKGAI, 1999:13
36. Kandun IN. Upaya pencegahan diare ditinjau dari aspek kesehatan masyarakat. Dalam: Kongres Nasional II BKGAI. Bandung: BKGAI, 2003: 29-43
37. Haque R, Mondal D, Kirkpatrick BD, Akther S, Farr BM, Sack RB, et al. Epidemiologic and clinical characteristic of acute diarrhea with emphasis on *Entamoeba histolytica* infections in preschool children in an urban slum of Dhaka, Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg* 2003;69:398-405
38. La Rosa M, Bottaro G, Gulino N, Gambuzza F, Di Forti F, Ini G, et al. Prevention of antibiotic-associated diarrhea with *Lactobacillus sporogens* and

- fructo-oligosaccharides in children. A multicentric double-blind vs placebo study. *Minerva Pediatr* 2003;55:447-52
39. Shornikova AV, Isolauri E, Burkanova L, Lukovnikova S, Vesikari T. A trial in the Karelian Republic of oral rehydration and *Lactobacillus GG* for treatment of acute diarrhoea. *Acta Paediatr* 1997;86:460-5
40. Simakachorn N, Pichaipat V, Rithipornpaisarn P, Kongkaew C, Tongpradit P, Varavithya W. Clinical evaluation of the addition of lyophilized, heat-killed *Lactobacillus acidophilus LB* to oral rehydration therapy in the treatment of acute diarrhea in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30:68-72
41. Saavedra JM, Bauman NA, Oung I, et al: Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *Lancet* 1994;344:1046-1049
42. Vrese MD, Stegelmann A, Richter B, Fenselau S, Laue C, Schrezenmeir J. Probiotics-compensation for lactase insufficiency. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:421S-9S
43. Cartwright P. Probiotics for crohn's colitis. United Kingdom: Prentice Publishing; 2003
44. Sudarmo SM, Cahyono HA, Soeparto P, Djupri L, Ranuh R. Manipulation of intestinal microflora with live bacteria on the clinical course of diarrhea in children (sitasi 16 juni 2005). Didapatkan dari: URL: <http://www.Protexin.com>
45. Fisberg M, Maulen-Radovan IE, Tormo R, Carrascoso MT, Giner CP, Martin FA, et al. Effect of oral nutritional supplementation with or without synbiotics on sickness and catch-up growth in preschool children. *Int Pediatr* 2002;17(4):216-22