

**PENGARUH SUPLEMENTASI SENG DAN PROBIOTIK
TERHADAP DURASI DIARE AKUT CAIR ANAK**

**(Effect of zinc and probiotic supplementation on duration of
acute watery diarrhea in children)**



TESIS

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat S-2
dan memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Kesehatan Anak

Fenty Karuniawati

G3C006031/ G4A005026

**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER ILMU BIOMEDIK
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
ILMU KESEHATAN ANAK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2010**

RIWAYAT HIDUP

Data Pribadi

- Nama : Fenty Karuniawati
- Jenis Kelamin : Perempuan
- Tempat dan Tanggal Lahir : Salatiga, 22 Pebruari 1971
- Agama : Islam
- Status : Menikah
- Alamat : Jl. Tlogobayam 694 Semarang

Riwayat Pendidikan

- Sekolah Dasar Negeri Kutowinangun I Salatiga, lulus tahun 1983
- Sekolah Menengah Pertama Negeri I Salatiga, lulus tahun 1986
- Sekolah Menengah Atas Negeri I Salatiga, lulus tahun 1989
- Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, lulus tahun 1996
- PPDS-I Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro - Semarang, Januari 2006 – sekarang
- Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro – Semarang, Januari 2006 - sekarang

Riwayat Pekerjaan

- Tahun 1996 – 1997, sebagai dokter jaga di RSI Sultan Hadlirin Jepara dan BPRB PKU Muhammadiyah Gubug Grobogan.
- Tahun 1997 – 1998, sebagai Dokter PTT di Puskesmas Bringin Kabupaten Semarang.
- Tahun 1998 – 2000, sebagai Kepala Puskesmas Bancak Kabupaten Semarang
- Tahun 2001 – 2002 sebagai dokter di RSUD RA Kartini Jepara
- Tahun 2002 – 2006 sebagai dokter puskesmas Keling I Kabupaten Jepara.

Riwayat Keluarga

1. Nama orang tua : Bapak : Alm. Drs. Pasiman
Ibu : Karlinah, BA
2. Nama suami : dr. Bambang Hariyana, M.Kes
3. Nama anak : Daffa Hafidz Afian
4. Nama kakak : Alm. Ir. Agus Rachmat Wicaksono, MM
5. Nama adik : Agustin Retno Wahyuningsih, SE

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena berkat karunia-Nya, Laporan Penelitian yang berjudul **“Pengaruh suplementasi seng dan probiotik terhadap durasi diare akut cair anak”** dapat saya selesaikan, guna memenuhi sebagian persyaratan dalam mencapai derajat S-2 dan memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Kesehatan Anak (IKA) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro (FK UNDIP).

Saya menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna karena keterbatasan yang saya miliki. Namun karena dorongan keluarga, bimbingan guru-guru kami dan teman-teman maka tulisan ini dapat terwujud.

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

1. Rektor Universitas Diponegoro Semarang, Prof. DR. Dr. Susilo Wibowo, MS. Med, Sp.And dan mantan Rektor Prof. Ir. Eko Budiardjo, M.Sc beserta jajarannya yang telah memberikan ijin bagi saya untuk menempuh PPDS-1 IKA FK UNDIP Semarang.
2. Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro, Prof. Drs. Y. Warella, MPA, Ph.D yang telah memberikan ijin kepada saya untuk menempuh Program Pasca Sarjana UNDIP Semarang.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana UNDIP Semarang DR. dr. Winarto, Sp.MK, SpM, para pengelola, DR, dr. Andrew Johan MsiMed, dr. Neni Susilaningsih MsiMed yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberi pengarahan dan dukungan moril selama pendidikan.
4. Dekan FK UNDIP dr. Soejoto, PAK, Sp.KK(K) beserta jajarannya yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti PPDS-1 IKA FK UNDIP.

5. Direktur Utama Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang dr. Hendriani Selina, MARS, Sp.A(K) dan mantan direktur dr. Budi Riyanto, Sp.PD, M.Sc, beserta jajaran Direksi yang telah memberikan ijin kepada saya untuk menempuh PPDS-1 IKA di Bagian IKA / SMF Kesehatan Anak di RSUP Dr. Kariadi Semarang.
6. Ketua Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UNDIP / SMF Kesehatan Anak RSUP Dr. Kariadi Semarang, dr. Dwi Wastoro SpA(K) serta dr. Budi Santosa, Sp.A(K) selaku mantan Ketua Bagian Ilmu Kesehatan Anak RSUP Dr. Kariadi Semarang yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti PPDS-1.
7. Dr. Budi Santosa, SpA(K) sebagai Pembimbing Utama dalam penelitian ini, secara khusus saya sampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya atas segala ketulusannya dalam memberikan bimbingan, wawasan, arahan dan meluangkan waktu sehingga saya dapat penyelesaian penelitian ini.
8. Alm. Prof. DR. dr. Endang Purwaningsih, MPH SpGK dan Dr. Niken Puruhita, M.MedSc, SpGK sebagai Pembimbing Kedua dalam penelitian ini atas segala ketulusannya, dalam memberikan bimbingan, motivasi, wawasan, arahan sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian ini.
9. Prof. DR. dr. Harsoyo N, DTM&H, SpA(K), selaku dosen wali pembimbing selama menjalani pendidikan di PPDS-1 IKA FK UNDIP, Terima kasih atas arahan dan bimbingannya.
10. Ketua Program Studi PPDS-1 IKA FK UNDIP, dr. Alifiani Hikmah P, SpA(K) saya sampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya atas pengertian dalam memberikan arahan, dorongan dan motivasi terus-menerus dalam menyelesaikan penelitian ini.
11. Prof. DR. Dr. Tjahyono, Sp.PA(K), FIAC, DR. dr. Andrew Johan, M.Si, dr. Pudjadi, SU, dr. Neni Susilaningsih, M.Si, saya ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas kesediaannya sebagai tim penguji proposal serta segala bimbingannya untuk perbaikan dan penyelesaian Tesis ini.

12. Para guru besar dan guru-guru saya, staf pengajar di Bagian IKA Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RS. Dr. Kariadi Semarang : Prof. dr. Moeljono S. Trastotenojo, Sp.A(K), Prof. DR. dr. Ag. Soemantri, Sp.A(K), Ssi (Stat), Prof. DR. dr. I. Sudigbia, Sp.A(K), Prof. DR. dr. Lydia Kristanti K, Sp.A(K), Prof. DR. dr. Harsoyo N, Sp.A(K), DTM&H, Alm. Prof. DR. Dr. Tatty Ermin Setiati, SpA(K), PhD, Prof. dr. Sidhartani Zain, MSc, SpA(K), dr. Kamilah Sp.A (K), dr. R. Rochmanadji Widajat, Sp.A(K), MARS, DR. dr. Tjipta Bahtera, SpA(K), dr. Moedrik Tamam, Sp.A(K), dr. H.M. Sholeh Kosim, Sp.A(K), dr. Rudy Susanto, Sp.A(K), dr. I. Hartantyo, Sp.A(K), dr. Herawati Juslam, Sp.A(K), dr. JC Susanto, Sp.A(K), dr. Agus Priyatno, Sp.A(K) dr. Asri Purwanti, Sp.A(K), MPd, dr. Bambang Sudarmanto, Sp.A(K), dr. MM DEAH Hapsari, Sp.A(K), DR. dr. Mexitalia Setiawati, Sp.A(K), dr. M. Herumuryawan, Sp.A, dr. Gatot Irawan Sarosa, Sp.A, dr. Anindita S, Sp.A, dr. Wistiani, Sp.A, MsiMed, dr. M. Supriatna, SpA, dr. Fitri Hartanto Sp.A, dr. Omega Mellyana, SpA, dr. Ninung Rose Diana SpA MsiMed, dr. Yetty Movieta, SpA, dr. Nahwa Arkhaesi, SpA, MsiMed, dr. Yusrina Istanti, SpA, MSiMed yang telah berperan besar dalam proses pendidikan saya.
13. dr. Sakundarno Adi, yang telah dengan tulus hati membantu saya dalam membimbing dan memberi arahan dalam pembuatan proposal penelitian ini.
14. Seluruh teman sejawat peserta PPDS-I, khususnya teman-temanku satu angkatan Januari 2006 dr. Chrisna Hendarwati, dr. Hani Purnamasari, dr. Dewi Ratih, dr. Patricia A Pattinama, dr Rony AP Tamba SpA, MSiMed, atas kerjasama yang baik, saling membantu dan memotivasi.
15. Rekan-rekan dari Laboratorium Patologi Klinik dan GAKI serta rekan-rekan perawat RSUP Dr. Kariadi Semarang atas kerjasama dan bantuannya selama ini.

16. Orang tua tercinta Alm. Bapak Drs Pasiman, Ibu Karlinah, BA, Alm. Bapak Noto Sukardjo dan Ibu Suyatmi, kakak tersayang Alm. Ir. Agus Rachmat Wicaksono MM dan adik tersayang Agustin Retno Wahyuningsih, SE atas bantuan, perhatian, dukungan, nasehat dan doa tulus sejak saya memulai pendidikan hingga sekarang. Suami terkasih dr. Bambang Hariyana, MKes dan buah hati kami Daffa Hafidz Afian, terima kasih karena senantiasa menjadi sumber kebahagiaan dan kekuatan tak terkira selama ini.
17. Kepada semua pasien dan keluarganya yang telah turut berpartisipasi secara ikhlas baik dalam penelitian ini maupun kepada mereka yang selama ini telah banyak memberi pelajaran yang sangat saya butuhkan untuk dapat menjadi seorang dokter yang baik, saya sampaikan terima kasih serta penghargaan setinggi-tingginya.
18. Pihak-pihak lain yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah mendukung dan membantu dalam menyelesaikan penelitian ini, saya juga sampaikan terima kasih tak terhingga, semoga Allah SWT membalas segala kebaikan dan dukungannya, Amin.

Akhirnya dari lubuk hati yang paling dalam, penulis juga menyampaikan permintaan maaf kepada semua pihak yang mungkin telah mengalami hal yang kurang berkenan dalam berinteraksi dengan penulis selama kegiatan pendidikan ini. Semoga Tuhan Yang Maha Penyayang senantiasa melimpahkan berkat dan karunia-NYA kepada kita sekalian, Amin.

Semarang, Juni 2010

Fenty Karuniawati

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
ABSTRAK	xviii
ABSTRACT	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan	6
1.3.1. Umum	6
1.3.2. Khusus	6
1.4. Manfaat penelitian	7
1.5. Originalitas penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1. Diare	10

2.1.1.	Definisi Diare	10
2.1.2.	Etiologi	11
2.1.3.	Sistem imunitas saluran cerna	12
2.1.4.	Patomekanisme diare	14
2.1.4.1.	Diare sekretorik	15
2.1.4.2.	Diare osmotik	15
2.1.5.	Faktor-faktor yang mempengaruhi terjadinya diare	16
2.1.5.1.	Umur	16
2.1.5.2.	Asupan diet	17
2.1.5.3.	Status gizi	18
2.1.5.4.	Mukosa usus pada penderita diare	19
2.2.	Seng	20
2.2.1.	Seng dan Sistem Imunitas	24
2.2.2.	Seng dan Saluran Cerna	27
2.2.3.	Peranan Seng sebagai ko-faktor enzim	31
2.3.	Probiotik	32
2.3.1.	Efek probiotik terhadap imunitas	32
2.3.2.	Peran probiotik pada pencegahan dan terapi Penyakit Gastrointestinal	34
2.3.3.	Jenis, dosis dan lama terapi	36
BAB III	KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	38
3.1.	Kerangka Teori	38

3.2. Kerangka Konsep	39
3.3. Hipotesis	39
BAB IV METODE PENELITIAN	41
4.1. Ruang Lingkup	41
4.2. Rancangan Penelitian	41
4.3. Populasi dan subyek penelitian	42
4.3.1. Populasi target	42
4.3.2. Populasi terjangkau	42
4.3.3. Subyek penelitian	43
4.3.3.1. Subyek penelitian	43
4.3.3.2. Besar subyek	43
4.3.3.3. Cara pengambilan subyek	45
4.3.3.4. Randomisasi	45
4.4. Variabel penelitian	45
4.4.1. Variabel bebas	45
4.4.2. Variabel tergantung	45
4.4.3. Variabel perancu	45
4.5. Definisi operasional	46
4.6. Bahan dan alat	47
4.6.1. Bahan	47
4.6.2. Alat	47
4.7. Cara kerja	48
4.8. Alur penelitian	50

4.9. Cara pengolahan data	50
4.10. Etika penelitian	51
BAB V HASIL PENELITIAN	52
BAB VI PEMBAHASAN	60
Keterbatasan penelitian	70
BAB VII SIMPULAN DAN SARAN	71
SIMPULAN	71
SARAN	71
DAFTAR PUSTAKA	72

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Skema yang menunjukkan inisiasi respon imun mukosa dan sel traffic pada sistem imun mukosa	13
Gambar 2.2. Protein zinc-finger	21
Gambar 2.3. Penyaluran seng di dalam tubuh	22
Gambar 2.4. Pengaruh defisiensi seng pada aktivasi limfosit	26
Gambar 2.5. Rangkaian reaksi biokimia akibat produksi NO dan sekresi traktus intestinal pada defisiensi seng	28
Gambar 2.6. Hubungan antara defisiensi seng, malnutrisi dan diare	31

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Penelitian suplementasi seng terhadap durasi diare akut anak	8
Tabel 1.2. Penelitian suplementasi probiotik terhadap durasi diare akut anak	9
Tabel 1.3. Penelitian suplementasi seng dan probiotik terhadap durasi diare akut anak	9
Tabel 2.1. Penilaian derajat dehidrasi	10
Tabel 2.2. Patomekanisme diare karena infeksi	15
Tabel 2.3. Rekomendasi kebutuhan seng menurut usia	23
Tabel 5.1. Karakteristik subyek berdasarkan kelompok	55
Tabel 5.2. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antar kelompok	56
Tabel 5.3. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antara kelompok kontrol dan kelompok seng	57
Tabel 5.4. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antara kelompok kontrol dan kelompok probiotik	57
Tabel 5.5. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antara kelompok kontrol dan kelompok seng-probiotik	57
Tabel 5.6. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antara kelompok seng dan kelompok seng-probiotik	57
Tabel 5.7. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antara kelompok probiotik dan kelompok seng-probiotik	58

Tabel 5.8. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antara kelompok kontrol dan kelompok suplementasi	58
Tabel 5.9. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antar kelompok pada subyek dengan gizi baik	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pemeriksaan kadar seng (Zn) serum dengan AAS

Lampiran 2. Data dasar

Lampiran 3. Analisa statistic SPSS-17

Lampiran 4. *Etichal clearance*

Lampiran 5. Lembar *Informed consent*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Diare masih merupakan penyebab tingginya angka kesakitan dan kematian pada anak di negara berkembang. Terjadi KLB diare di 15 propinsi pada tahun 2008 dengan jumlah penderita sebanyak 8.443 orang, meningkat bila dibandingkan dengan tahun 2007, KLB terjadi di 8 propinsi dengan jumlah penderita 3.659. Jumlah kematian pada tahun 2008 sebanyak 209 orang atau Case Fatality Rate (CFR) sebesar 2,48% meningkat dibandingkan tahun 2007 sebanyak 69 orang atau CFR sebesar 1,89%. Statistik menunjukkan bahwa lebih dari 70% kematian balita disebabkan diare, pneumonia, dan malnutrisi.¹

Penyebab diare bersifat multifaktorial, disamping adanya agen penyebab, unsur kerentanan dan perilaku pejamu serta faktor lingkungan sangat berpengaruh, oleh karenanya program pencegahan dan pemberantasan diare diarahkan untuk memperkuat daya tahan tubuh pejamu, mengubah lingkungan dan perilaku kearah yang kondusif untuk kesehatan.^{2,3} Salah satu cara untuk memperkuat daya tahan tubuh adalah dengan pemberian seng. Seng merupakan mikronutrien yang mempunyai banyak fungsi antara lain berperan penting dalam proses pertumbuhan dan diferensiasi sel, sintesis DNA serta menjaga stabilitas dinding sel. Jaringan yang terus-menerus mengalami pergantian sel dengan cepat, seperti saluran cerna dan sistem imunitas akan terkena dampak yang bermakna bila terjadi kekurangan

seng.⁴ Defisiensi seng masih banyak terjadi terutama di negara berkembang. Hal ini berkaitan kurangnya asupan, meningkatnya kebutuhan, dan banyaknya kehilangan seng dari tubuh akibat penyakit terutama infeksi. Terdapat hubungan timbal balik antara infeksi dan defisiensi seng yang saling mempengaruhi. Kebutuhan seng tubuh akan meningkat saat terjadi infeksi, untuk pembentukan fungsi imun dan pembentukan sel baru. Defisiensi seng dapat menimbulkan penekanan fungsi imun sehingga memudahkan terjadinya infeksi.^{5,6} Seng berperan menjaga integritas mukosa usus melalui fungsinya dalam regenerasi sel dan stabilitas membran sel. Seng mempunyai dampak langsung pada vili intestinalis, aktifitas disakaridase *brush border* dan transport air dan elektrolit intestinal. Seng juga berperan pada fungsi sel T dan meningkatkan imunitas sehingga mengurangi beratnya diare.⁷

Penelitian menunjukkan dampak positif pemberian seng dalam memperpendek durasi diare dan mengurangi proporsi diare yang menjadi kronik. Penelitian di India pada anak 6-36 bulan yang dirawat karena diare mendapatkan pemendekan durasi diare 16% dibanding kontrol.⁸ Penelitian di Bangladesh pada anak 6-59 bulan yang diberikan suplementasi seng 20 mg/hari mendapatkan penurunan durasi diare 2,5 hari.⁶ Penelitian di Brazilia juga mendapat hasil serupa dengan penurunan durasi sebesar 1,3 hari.⁹ Penelitian di Indonesia dengan memberikan suplementasi seng 4-5 mg/kgBB/hari mendapatkan penurunan risiko berlanjutnya diare sebesar 12%.¹⁰ Beberapa penelitian tidak mendapatkan penurunan durasi diare yang bermakna secara statistik seperti pada penelitian di India yang memberikan suplementasi di komunitas.^{11,12} Penelitian pada penderita

yang dirawat juga tidak mendapatkan pemendekan durasi diare yang bermakna secara statistik.¹³ Penelitian di Indonesia juga tidak mendapatkan durasi diare yang bermakna walaupun didapatkan insiden diare yang lebih rendah pada kelompok seng.¹⁴ Metaanalisis yang dilakukan oleh Aggarwal mendapatkan penurunan durasi diare dengan RR:0,86.¹⁵ Analisis beberapa penelitian mendapatkan pemberian seng mengurangi durasi diare sampai 25%. Hasil penelitian juga memperlihatkan penurunan proporsi diare yang berlangsung lebih dari 7 hari.^{16,17}

Suplementasi pada pengelolaan diare selain pemberian seng adalah penggunaan probiotik. Probiotik banyak disebut sebagai suatu bakteri yang tidak patogen, penghuni normal usus manusia dan binatang. Keberadaan bakteri tersebut memberikan keuntungan terutama dalam hal proteksi usus terhadap serangan bakteri patogen. Bakteri probiotik yang sering digunakan untuk memperpendek durasi diare adalah *Lactobacillus GG*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* dan *Enterococcus faecium*.^{18,19} Hasil dari beberapa penelitian tentang pengaruh probiotik dalam memperpendek durasi diare masih kontradiksi. Penelitian yang melaporkan keberhasilan penggunaan probiotik dalam memperpendek durasi diare antara lain penelitian di Bali²⁰ dan Makasar mendapatkan penurunan lama diare ± 1 hari pada diare akut nonspesifik sesuai dengan penelitian yang dilakukan Isolauri dkk dan Huang dkk.²¹ Van Niel dkk dalam penelitian meta-analisis terapi *Lactobacillus* terhadap diare akut pada anak mendapatkan durasi diare berkurang 0,7 hari pada kelompok yang menerima *Lactobacillus* dibanding kelompok yang menerima placebo²², sedangkan meta-

analisis yang dilakukan oleh McFarland LV dkk mendapatkan penurunan durasi diare sebesar 0,56 hari.²³ Penelitian yang tidak mendapatkan penurunan durasi yang bermakna pada pemberian probiotik dalam pengelolaan diare akut anak antara lain di India yaitu penelitian RCT tersamar ganda pada anak 6 bulan – 12 tahun dengan diare akut yang mendapat *Lactobacillus acidophilus* 15×10^9 CFU selama 3 hari.²⁴ Hasil yang sama didapatkan juga dari penelitian di Brazil pada anak 1 – 24 bulan dengan diare akut cair yang mendapatkan *Lactobacillus GG* 1×10^9 CFU.²⁵

Terapi baku diare akut pada bayi dan anak saat ini adalah rehidrasi, baik oral maupun parenteral sesuai derajat dehidrasi serta pemberian nutrisi dan ASI², sedangkan pemberian obat anti diare baik dari golongan adsorben, anti motilitas maupun antibiotik sangat tidak dianjurkan. Pemberian antibiotik pada diare akut sangat tidak rasional karena tidak didasarkan pada indikasi dan tidak terbukti memberikan manfaat, kecuali hanya pada kasus disentri akibat *Shigella*.²⁶ WHO dan UNICEF telah merekomendasikan pemberian suplementasi 20 mg seng per hari (10 mg per hari untuk bayi kurang dari 6 bulan) selama 10 – 14 hari pada pengelolaan diare anak kurang dari 5 tahun karena telah terbukti efektif dan aman untuk terapi pada diare. Diare akut yang tidak ditangani dengan tepat dapat memperpanjang durasi diare yang berakibat penderita jatuh pada keadaan diare kronik, yaitu durasi diare lebih dari 14 hari.²⁷

Penelitian tentang penggunaan seng dan probiotik dalam pengelolaan diare secara terpisah sudah banyak dilakukan tetapi belum banyak penelitian yang membandingkan efektifitas kombinasi suplementasi seng dan probiotik pada anak

dalam mengurangi durasi diare akut. Penelitian di Israel pada anak 6-12 bulan dengan diare akut yang diberikan diet formula yang mengandung seng dan probiotik didapatkan penurunan durasi diare sebesar 0,62 hari pada kelompok perlakuan.²⁸ Efek probiotik pada saluran pencernaan mempunyai peran dalam menghambat adhesi patogen dan imuno modulasi. Mekanisme yang sama juga terdapat pada seng yaitu mempertahankan integritas barier, memproteksi kuman patogen dan mengatur respon imun intestinal. Melalui mekanisme kedua zat ini, pemberian kombinasi seng dan probiotik secara bersamaan pada penelitian ini diharapkan terdapat efek sinergisme dalam menurunkan durasi diare akut. Pada penelitian terdahulu tidak bisa dibandingkan penurunan durasi diare apabila suplementasi diberikan secara terpisah atau bersamaan sedangkan pada penelitian ini bertujuan membandingkan efek suplementasi seng dan probiotik terhadap durasi diare bila diberikan secara terpisah atau bersamaan pada diare akut cair.

1. 2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :

Adakah perbedaan durasi diare akut cair pada anak umur 6-24 bulan yang mendapat terapi baku dengan yang diberi suplementasi seng, suplementasi probiotik serta suplementasi seng dan probiotik secara bersamaan?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Umum :

Membuktikan perbedaan durasi diare akut cair pada anak umur 6-24 bulan yang diberikan terapi baku, terapi baku dengan suplementasi seng, terapi baku dengan suplementasi probiotik serta terapi baku dengan suplementasi seng dan probiotik secara bersamaan.

1.3.2. Khusus :

1. Mendeskripsikan durasi diare akut cair anak umur 6-24 bulan yang diberi terapi baku, terapi baku dengan suplementasi seng, terapi baku dengan suplementasi probiotik, terapi baku dengan suplementasi seng dan probiotik.
2. Menganalisis perbedaan durasi diare akut cair anak umur 6-24 bulan yang diberi terapi baku dengan yang diberi terapi baku dan suplementasi seng, terapi baku dan suplementasi probiotik serta terapi baku dan suplementasi seng dan probiotik.
3. Menganalisis perbedaan durasi diare akut cair anak umur 6-24 bulan yang diberi terapi baku dan suplementasi seng dan probiotik secara bersamaan dengan yang diberi terapi baku dan suplementasi seng dan suplementasi probiotik secara terpisah.

1.4. Manfaat Penelitian

1. 4. 1. Manfaat Pendidikan/Keilmuan :

Memberikan masukan mengenai pengaruh pemberian suplementasi seng, suplementasi probiotik serta suplementasi seng dan probiotik secara bersamaan terhadap durasi diare akut cair anak

1. 4. 2. Manfaat Pelayanan Kesehatan :

Memperpendek durasi diare akut cair anak dengan pemberian suplementasi seng dan probiotik sehingga diharapkan dapat memperpendek lama rawat (*length of stay*)

1. 4. 3. Manfaat Penelitian :

Dapat dijadikan sumbangan pemikiran dalam penelitian efisiensi dan efikasi pengelolaan diare akut cair pada anak.

1.5. Originalitas penelitian

Penelitian tentang suplementasi seng pada diare akut sudah banyak dilakukan (tabel 1.1), penelitian tentang suplementasi probiotik pada diare akut juga sudah banyak dilakukan (tabel 1.2). Penelitian tentang suplementasi seng dan probiotik secara bersamaan pada diare akut masih sedikit (tabel 1.3). Perlakuan pada penelitian tersebut dengan diberikan diet formula yang difortifikasi seng dan probiotik, tidak bisa dibedakan pengaruhnya bila diberikan secara terpisah atau bersamaan. Seng dan probiotik pada penelitian ini diberikan dalam bentuk suplemen dan diberikan baik secara terpisah maupun bersamaan, sehingga diharapkan dapat dinilai

perbedaan durasi diare akut cair bila mendapatkan suplementasi seng dan probiotik secara terpisah atau bersamaan.

Tabel 1.1 Penelitian suplementasi seng terhadap durasi diare akut anak

No	Peneliti/th	Desain /Subyek	Perlakuan	Hasil
1.	Hidayat A dkk / Indonesia. Med J Indones 1998. ¹⁰	RCT /1-4 th/ 1185	4-5 mg seng/kgBB/hari vs placebo (<i>community</i>)	Penurunan resiko berlanjutnya diare 12%
2.	IZiNCGT. Am J Clin Nutr 2000. ¹⁶	RCT /< 5 th / 2446	(<i>community</i>)	Penurunan durasi diare 10-24%
3.	Strand TA dkk / India. Pediatrics 2002. ¹¹	RCT /6 - 35 bln / 1792	Zn syr vs Zn syr + vit A cap vs Vit A cap vs syr + cap plasebo (<i>community</i>)	Tidak signifikan
4.	Bahl R dkk / India. J Pediatr 2002. ¹²	RCT /6-35 bln / 1219	Zn syr vs Zn+ORS vs ORS (<i>community</i>)	Tidak signifikan
5.	Al Sonboli N dkk / Brazilian. Ann Trop Paediatr 2003. ⁹	RCT /3-60 bln / 74	Zn vs Vit C (<i>hospitalized</i>)	1,3 hari
6.	Bhatnagar S dkk / India. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2004. ⁸	RCT /6 – 36 bln / 266	(<i>hospitalized</i>)	16% lebih cepat
7.	Brooks WA dkk / Bangladesh. Am J Clin Nutr 2005	RCT /1-6 bln / 275	20 mg Zn vs 5 mg Zn vs placebo (<i>hospitalized</i>)	Tidak signifikan 5 (4,6) vs 5 (4,6)
8.	Patel AB dkk / India. Indian Pediatr 2005. ¹³	RCT /6-59 bln / 220	40 mg ZnSO4 + 5 mg CuSO4 vs placebo (<i>hospitalized</i>)	Tidak signifikan 4,34±0,2 vs 4,48 ±0,2
9.	Purwaningsih E. dkk / Indonesia. M med Indones 2005. ¹⁴	RCT /4-7 bln / 800	Zn vs Fe vs Zn + Fe vs placebo (<i>community</i>)	Tidak signifikan
10.	Baqui A dkk / Bangladesh. Indian J Pediatr 2006. ⁶	Cluster RCT / 3-59 bln / 150	20 mg Zn vs control (<i>community</i>)	2,5 hari
11.	Aggarwal R dkk / Pediatric 2007. ¹⁵	RCT /3 bl – 5 th	Zn vs plasebo	Penurunan durasi diare (RR:0,86)

Tabel 1.2 Penelitian suplementasi probiotik terhadap durasi diare akut anak

No	Peneliti/tahun	Desain /Subyek	Perlakuan	Hasil
1.	Putra IGNS dkk/ Indonesia. Paediatr Indones 2007. ²⁰	RCT /1 - 12 bulan / 70	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Streptococcus faecium</i> viable cell >1x10 ⁷ CFU/g, + vit. Vs vitamin. (hospitalized)	24 jam
2.	McFarland LV dkk./ 2006. Int J Probiotics Prebiotics 2007. ²³	RCT/ metaanalisis		0,56 hari
3.	Alasiry E dkk / Indonesia. Sari Pediatri 2007. ²¹	RCT /6 – 24 bulan / 160	Probiotik dilarutkan ORS vs ORS (hospitalized)	1 hari
4.	Khanna V dkk / India. Indian J Pediater 2005. ²⁴	RCT /6 bl – 12 th (98)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> vs placebo. (hospitalized)	Tidak signifikan
5.	Ribeiro C dkk/ Brazil. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003. ²⁵	RCT /< 2 th (124)	<i>Lactobacillus casei</i> subspecies <i>rhamnosus</i> vs placebo. (hospitalized)	Tidak signifikan
6.	Rosenfeldt dkk / 2002	RCT /(69)	mixture of <i>Lactobacillus rhamnosus</i> 19070-2 and <i>Lactobacillus reuteri</i> DSM 12246, 1010 CFU vs placebo 2x/hr 5 hr. (hospitalized)	Tidak signifikan
7.	Niel CWV dkk/ Pediatrics 2002. ²²	RCT/ metaanalisis	<i>Lactobacillus</i> vs plasebo	0,7 hari

Tabel 1.3 Penelitian suplementasi seng dan probiotik terhadap durasi diare akut anak

No	Peneliti/ tahun	Desain Subyek	Perlakuan	Hasil
1.	Shamir R dkk/ Israel . J Am Coll Nutr 2005. ²⁸	RCT /6-12 bulan (65)	6 _ 10 ⁹ CFU <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> (2 _ 10 ⁹ of each strain) + 10 mg of zinc/day vs placebo diberikan dalam formula <i>soy protein based rice cereal</i> (community)	0,62 hari

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diare

2.1.1. Definisi Diare

Diare dapat didefinisikan sebagai sindroma klinik / penyakit yang ditandai peningkatan frekuensi buang air besar tiga kali atau lebih dalam satu hari dan perubahan konsistensi tinja kearah cair.²⁹ Diare akut cair menunjukkan diare yang terjadi secara akut dan berlangsung kurang dari 14 hari (bahkan sebagian besar kurang dari 7 hari) dengan pengeluaran tinja yang lunak atau cair yang sering dan tanpa darah. Mungkin disertai muntah dan panas. Diare akut cair dapat menyebabkan dehidrasi.² Derajat dehidrasi ditentukan berdasarkan penilaian dehidrasi sebagai berikut :

Tabel 2.1. Penilaian derajat dehidrasi ²

Penilaian	A	B	C
Keadaan umum	Baik, sadar	Gelisah, rewel *	Lesu, lunglai atau tidak sadar *
Mata	Normal	Cekung	Sangat cekung dan kering
Air mata	Ada	Tidak ada	Tidak ada
Mulut dan lidah	Basah	Kering	Sangat kering
Rasa haus	Minum biasa tidak haus	Haus, ingin minum banyak *	Malas minum atau tidak bisa minum *
Turgor kulit	Kembali cepat	Kembali lambat *	Kembali sangat lambat *
Hasil pemeriksaan	Tanpa dehidrasi	Dehidrasi ringan/sedang Bila ada 1 tanda * ditambah 1 atau lebih tanda lain	Dehidrasi berat Bila ada 1 tanda * ditambah 1 atau lebih tanda lain

Sumber : Tim Pendidikan Medik Pemberantasan Diare (PMPD). Buku ajar diare. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 1999

Penderita dengan dehidrasi ringan sedang atau berat harus ditimbang. Anak ditimbang tanpa pakaian. Berat badan penting untuk menentukan jumlah cairan oral/intravena yang harus diberikan pada rencana rehidrasi. Berat badan anak yang ditimbang ketika anak dehidrasi tidak boleh dicatat pada kartu KMS karena akan menjadi lebih rendah karena dehidrasi. Anak harus ditimbang lagi sesudah rehidrasi.²

2.1.2. Etiologi

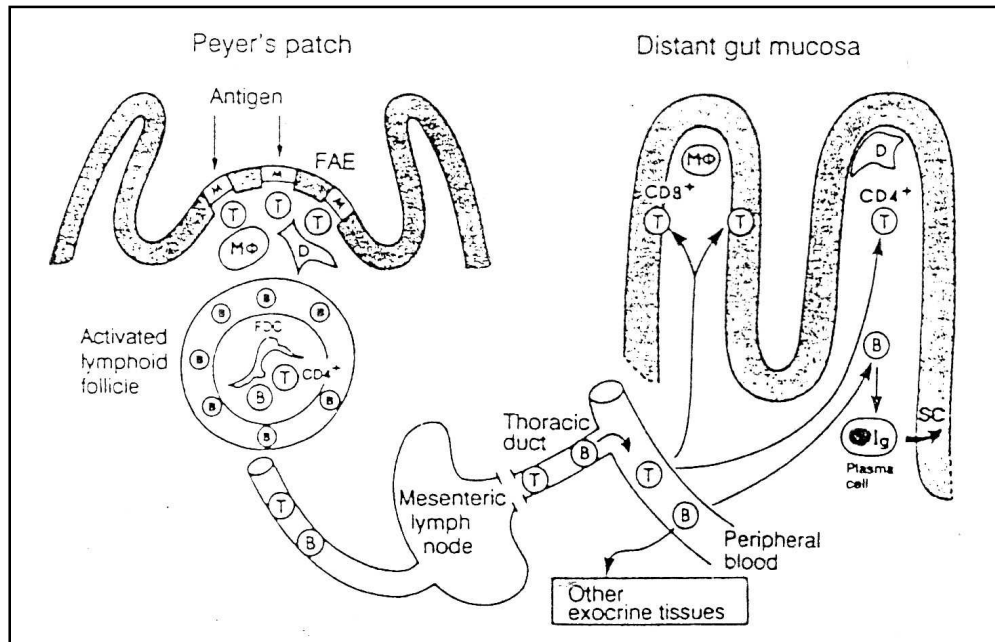
Beberapa penyebab diare antara lain infeksi (bakteri, virus, protozoa, dan parasit), alergi, malabsorpsi, keracunan bahan makanan, obat dan defisiensi imun. Pada saat ini, 75% kasus yang datang ke sarana kesehatan etiologinya dapat diketahui dengan pasti.²

Epidemiologi patogen diare bervariasi sesuai dengan lokasi geografis. Anak-anak di negara sedang berkembang banyak terinfeksi bakteri patogen dan parasit, sedangkan di negara maju banyak yang terinfeksi oleh rotavirus.³⁰ Suharyono mendapatkan enteropatogen di bangsal Gastroenterologi Anak RSCM Jakarta dengan prevalensi *Rotavirus* 30,4%, *E.coli* patogen 45,9%, *E.coli* toksigenik 14,3%, *Salmonella* 22,2%, *Shigella* 1,2%, *Campylobacter* 5,8% dan *V.cholerae* 1,2%.³¹ Sedangkan penelitian di Bandung mendapatkan prevalensi infeksi *Rotavirus* pada penderita diare akut anak berusia 1-60 bulan yang datang berobat ke Puskesmas di wilayah kerja kota Bandung sebanyak 48,8%.³²

2.1.3. Sistem imunitas saluran cerna

Respon imunitas saluran cerna terdiri dari dua komponen yaitu respon spesifik terhadap antigen dan nonspesifik. Respon imunitas spesifik dibagi menjadi respon humoral dan seluler. Respon humoral menghasilkan pembentukan antibodi terhadap antigen. Sedangkan respon seluler meliputi induksi sel sitotoksik efektor spesifik atau sekresi sitokin yang memicu inflamasi. Membran mukosa saluran cerna selalu terpapar faktor lingkungan eksternal. Sistem pertahanan bekerjasama secara kompleks membentuk barier mukosa untuk mempertahankan host dari serangan patogen, toksin dan alergen.^{33,34}

Epitel saluran cerna dan produk yang dihasilkannya merupakan komponen yang penting dari sistem imunitas alami dan merupakan barier terhadap invasi patogen. *Tight junction* antar epitel mengurangi transport antigen. Lisosim saliva merusak membran mikroba. Asam dan pepsin di lambung mengurangi jumlah mikroba. Enzim proteolitik juga membantu jumlah mikroba tetap rendah di usus. Epitel saluran cerna mensekresi mukus, yang membentuk kompleks glikoprotein yang berikatan dan menangkap patogen yang invasif dan antigen makanan serta mencegah interaksi dengan reseptor di sel epitel. Ultrastruktur epitel terutama mikrovili dan motilitas normal juga membantu *clearance* bakteri dan mencegah penyakit.³⁵ Lapisan mukosa usus selalu dalam pembaharuan (*renewal*). Epitel usus mengalami tingkat pergantian yang paling cepat bila dibandingkan dengan jaringan tubuh lain. Pada manusia pergantian epitel usus terjadi dalam setiap 3 sampai 6 hari.^{33,34}



Gambar 2.1. Skema yang menunjukkan inisiasi respon imun mukosa dan sel traffic pada sistem imun mukosa. Antigen luminal terutama dibawa ke Peyer's patch melalui sel M (M) dari follicle-associated epithelium (FAE) dan dipresentasikan ke sel T(T) oleh HLA kelas II-positif sel dendrit (D) atau makrofag (Mo) setelah diproses. Antigen dipresentasikan ke sel B oleh follicular dendritic cell (FDC) dibawah pengaruh CD4+ regulatory sel T. Baik sel T maupun B memory migrasi melalui kelenjar limfe ke sirkulasi darah perifer dan ekstrasvasi terutama pada lamina propia usus tetapi juga ke jaringan eksokrin lain, meliputi saluran digestif atas dan saluran nafas. Sel B intestinal yang tetap ada di lamina propia berdeferensiasi dibawah pengaruh D, Mo dan CD4+ sel T menjadi sel plasma yang memproduksi IgA polimerik, yang dibawa ke lumen oleh epitel SC. Kebanyakan CD8+ sel T migrasi keepitel villi, mungkin untuk mediator toleransi oral terhadap antigen makanan. (ditulis dari Brandt-zaeg P and others: Gastroenterol Clin North Am 2-:397-439,1991. with permission).³³

GALT (*Gut associated-lymphoid tissue*) adalah organ limfoid yang terdapat dalam saluran intestinal terdiri dari 2 jenis agregasi limfosit. Pertama adalah *Peyer's Patch* yang merupakan limfonodi intramukosa terbentuk dari folikel B sedangkan *SLN (solitary lymphoid nodule)* merupakan agregasi yang soliter yang tersebar di seluruh saluran intestinal. Terdapat lapisan limfoepitelium yang berada di atasnya yang terdiri atas limfosit dan sel epitel yang disebut sel M (*microfold cell*). Sel ini tidak mempunyai *brush border* maupun membran basalis, mengandung banyak limfosit intraepitelial, sedikit sel goblet, berbentuk kuboid

serta mempunyai lipatan-lipatan (*microfold*) dan bukan mikrovili. Sel menghantarkan antigen dari lumen saluran cerna ke limfosit dan makrofag yang terdapat dalam sel. Limfosit atau makrofag yang menangkap antigen tersebut meninggalkan sel M dan berpindah menuju folikel limfoid setempat. *Peyer's patch* merupakan agregat folikel limfoid di mukosa gastrointestinal yang ditemukan di seluruh yeyunum dan ileum. *Peyer's patch* merupakan tempat prekursor sel B yang dapat melakukan *switching* untuk memproduksi IgA.^{33,34}

Komponen penting pertahanan mukosa host pada permukaan epitel usus adalah antibodi intestinal, khususnya IgA sekretori. Defisiensi antibodi sekretori menyebabkan kegagalan fungsi mukosa, menyebabkan peningkatan *uptake* antigen makromolekul yang menyebabkan patogenesis penyakit intestinal atau sistemik. Interaksi antibodi intestinal dengan antigen, enterotoksin atau bakteri dapat mencegah perlekatan pada membran sel epitel, mencegah *uptake* antigen atau penetrasi oleh patogen. Sehingga dalam kondisi normal, sistem imun mukosa matur membatasi *uptake* antigen dan mengeliminasi patogen.^{33,34}

2.1.4. Patomekanisme diare

Ada 2 prinsip patomekanisme terjadinya diare akut cair, yaitu : (1) sekretorik (2) osmotik. Infeksi usus dapat menyebabkan diare melalui ke 2 mekanisme tersebut, diare sekretorik lebih sering terjadi dan keduanya dapat terjadi pada satu penderita.^{2,29}

2.1.4.1. Diare sekretorik

Diare sekretorik disebabkan sekresi air dan elektrolit ke dalam usus halus. Hal ini terjadi bila absorpsi natrium oleh vili gagal sedangkan sekresi klorida di sel epitel berlangsung terus atau meningkat. Hasil akhir adalah sekresi cairan yang mengakibatkan kehilangan air dan elektrolit dari tubuh sebagai tinja cair. Kripte melakukan sekresi aktif klorida dan menghambat absorpsi natrium, klorida dan HCO_3^- yang dirangsang oleh siklik AMP, siklik GMP dan Ca^{2+} . Pada diare karena infeksi perubahan ini terjadi karena adanya rangsangan pada mukosa usus oleh toksin bakteri atau virus seperti dalam tabel 2.2.^{2,29}

Tabel 2.2. Patomekanisme diare karena infeksi²

Kenaikan cAMP	Kenaikan cGMP	Ca-Kalmodulin	Enterotoksin sitotoksik
Vibrio cholerae	Escherichia coli ST	Clostridium difficile	Clostridium difficile
Escherichia coli LT	Yersinia enterocolitica	Efek mediasi dari peningkatan cAMP dan cGMP	Clostridium perfringens
Salmonella spp	Klebsiella pneumonia		Bacillus cereus
Aeromonas spp			Aeromonas spp
Campylobacter jejuni			Shigella spp
Shigella dysenteriae			

Sumber : Gracey M & Burke V in Pediatric Gastroenterology and Hepatology; Gracey M. Ed.3th ed. 1993

2.1.4.2. Diare osmotik

Diare osmotik disebabkan meningkatnya osmolaritas intra luminal, misalnya absorpsi larutan dalam lumen kolon yang buruk. Sebagai contoh adalah defisiensi enzim disakaridase primer ataupun sekunder pada anak yang menderita malnutrisi atau diare yang disebabkan *Rotavirus* akan menyebabkan gangguan pemecahan karbohidrat golongan disakarida karena kerusakan mikrovili. Adanya karbohidrat

yang tidak dapat diabsorpsi, setelah mencapai usus besar akan difermentasi bakteri menjadi asam organik sehingga menyebabkan suasana hiperosmolar yang kemudian dapat mengakibatkan sekresi air ke dalam lumen usus. Diare osmotik dapat juga terjadi pada pemberian laktulose, oralit ataupun bahan-bahan lain yang bersifat hiperosmolar.^{2, 29}

2.1.5. Faktor - faktor yang mempengaruhi durasi diare

2.1.5.1 Umur

Survei diare tahun 1990 di Kecamatan Beringin Kabupaten Semarang mendapatkan kejadian tertinggi pada golongan umur 6 – 24 bulan. 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.³¹

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 durasi diarenya. Penelitian di Surabaya menunjukkan bahwa diare persisten terjadi pada 2,73% penderita diare akut, dan terbanyak terjadi pada usia 0-2 bulan. Penelitian ini menunjukkan bahwa umur merupakan salah satu faktor determinan yang terkait dengan durasi diare. 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.³¹

2.1.5.2 Asupan diet

Asupan diet menempati posisi penting dalam tatalaksana diare pada anak, karena ada hubungan timbal balik antara nutrisi dan diare. ASI menempati posisi strategis, karena ASI dapat terus diberikan sejak saat rehidrasi sampai sesudahnya sesuai dengan rekomendasi terbaru WHO 2006 dalam manajemen diare.²⁷ ASI biasanya dapat diserap dan dicerna pada saat diare. Anak-anak yang tetap diberi ASI selama diare pengeluaran tinjanya berkurang dan lama penyakitnya lebih pendek daripada anak yang tidak diberi ASI.²

Pemberian makanan mempercepat penyembuhan mukosa usus dan merangsang pemulihan dini fungsi pankreas dan produksi enzim disakaridase oleh mikro vili usus. Keadaan ini mempercepat absorpsi zat-zat makanan.² Makanan yang diberikan untuk anak diare harus memenuhi syarat : mudah dicerna dan diabsorpsi, kandungan laktose rendah, mengandung vitamin dan mineral terutama seng serta memperhatikan pola makan setempat.³⁶ Pemberian suplementasi tempe pada penderita diare anak umur 6 – 24 bulan, secara statistik berbeda bermakna dalam menurunkan lama diare.³¹

Anak yang mendapat diet campuran misalnya susu sapi, sereal yang dimasak dan sayur-sayuran, pengeluaran tinjanya tidak bertambah. Anak yang hanya mendapat susu sapi atau formula kemungkinan volume tinjanya meningkat. Makanan biasanya diterima dengan baik pada saat diare, kecuali intoleran

terhadap laktosa dan kadang-kadang terhadap protein dari susu sapi yang secara klinis sudah terbukti. Keadaan ini jarang terjadi pada diare akut tetapi dapat menjadi masalah pada anak-anak dengan diare persisten.^{2,36}

Defisiensi enzim laktase dapat terjadi pada diare akut, tetapi tidak selalu didapatkan korelasi antara defisiensi laktase yang diperoleh dari analisis enzim dari jaringan biopsi dengan status toleransi laktosa yang dinyatakan dengan pembebanan laktosa (*laktosa challenge*). Penelitian yang dilakukan pada anak diare akut karena *Rotavirus* menunjukkan bahwa intoleransi laktosa yang dinyatakan dengan pemeriksaan *breath hydrogen test* abnormal terdapat pada 55% dan tidak ada hubungannya dengan beratnya diare. Tindak lanjut yang dilakukan 1 minggu kemudian didapatkan pasien sudah normal kembali, kemungkinan pasien sudah normal sebelumnya. Penelitian lain menunjukkan kejadian malabsorpsi laktosa sebesar 50% dan intoleransi laktosa sebesar 32% pada anak usia 2 bulan sampai dengan 5 tahun 5 bulan. Pemberian susu formula rendah laktosa hanya dianjurkan pada diare akut dehidrasi berat yang menunjukkan produksi tinja cair, dan bila ada fasilitas yang membuktikan adanya intoleransi laktosa, misalnya pH tinja yang asam dan adanya bahan yang mereduksi dalam tinja (lebih dari 5%).³⁶

2.1.5.3. Status gizi

Serangan diare pada penderita malnutrisi terjadi lebih sering dan lebih lama. Semakin buruk keadaan gizi anak, semakin sering dan berat diare yang dideritanya. Traktus gastrointestinal sangat rentan terhadap malnutrisi. Malnutrisi

mengakibatkan kerusakan barrier mukosa sehingga meningkatkan kerentanan terhadap infeksi. Malnutrisi juga mengganggu produksi dan maturasi dari enterosit baru sehingga merubah morfologi intestinal.³⁷

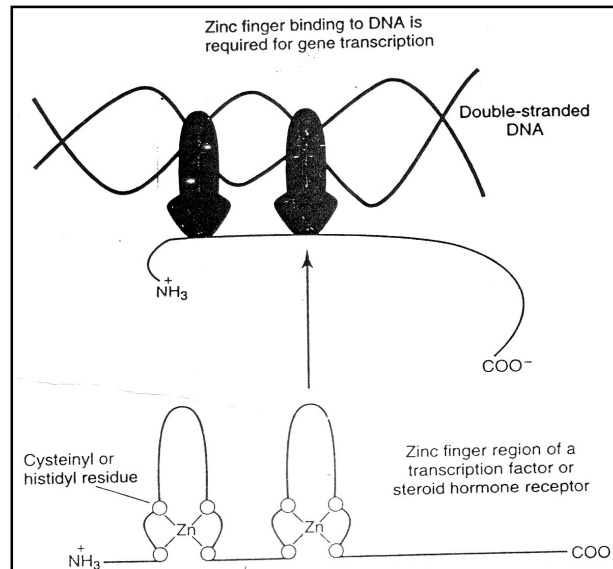
2.1.5.4. Mukosa usus pada penderita diare

Kerusakan mukosa usus dapat terjadi karena gangguan integritas mukosa usus yang banyak dipengaruhi dan dipertahankan oleh sistem imunologik saluran cerna serta regenerasi epitel usus, sehingga sistem imunologis saluran cerna patut diduga mempunyai peranan penting dalam proses diare di samping kemampuan regenerasi epitel usus.³⁸ Akibat diare akut dapat terjadi kerusakan mukosa yang sering kali menimbulkan gangguan penyerapan makanan yang serius. Keadaan ini mungkin diikuti oleh kerusakan mukosa usus yang terjadi secara lingkaran setan, sehingga bergantian akan menimbulkan kerusakan mukosa usus yang berlanjut, berupa pemendekan jonjot usus (*vili intestinalis*) dan permukaan kripte yang menyebabkan berkurangnya permukaan mukosa usus. Gangguan penyerapan makanan dapat disebabkan: (a) kerusakan permukaan epitel mukosa usus (*brush border*) sehingga timbul kekurangan enzim laktase, (b) bakteri tumbuh lampau, yang akan menimbulkan proses fermentasi karbohidrat dan dekonjugasi garam empedu.³¹

2.2. Seng

Seng adalah suatu mikronutrien esensial dengan fungsi biologis yang sangat banyak dan beragam. Seng sangat besar keterlibatannya dalam proses pertumbuhan dan diferensiasi sel. Seng berperan dalam menjaga stabilitas dinding sel.³⁹ Lebih dari 200 metaloenzim yang mengandung seng dengan paling tidak 20 fungsi biologi yang berbeda telah diidentifikasi pada berbagai spesies. Fungsi metaloenzim terutama berhubungan dengan seng. Hilangnya fungsi spesifik metaloenzim tersebut merupakan gejala yang berhubungan dengan defisiensi seng. Seng didapatkan pada sitosol, vesikel, organel dan nucleus sehingga seng tergabung dalam banyak enzim seluler.⁴⁰

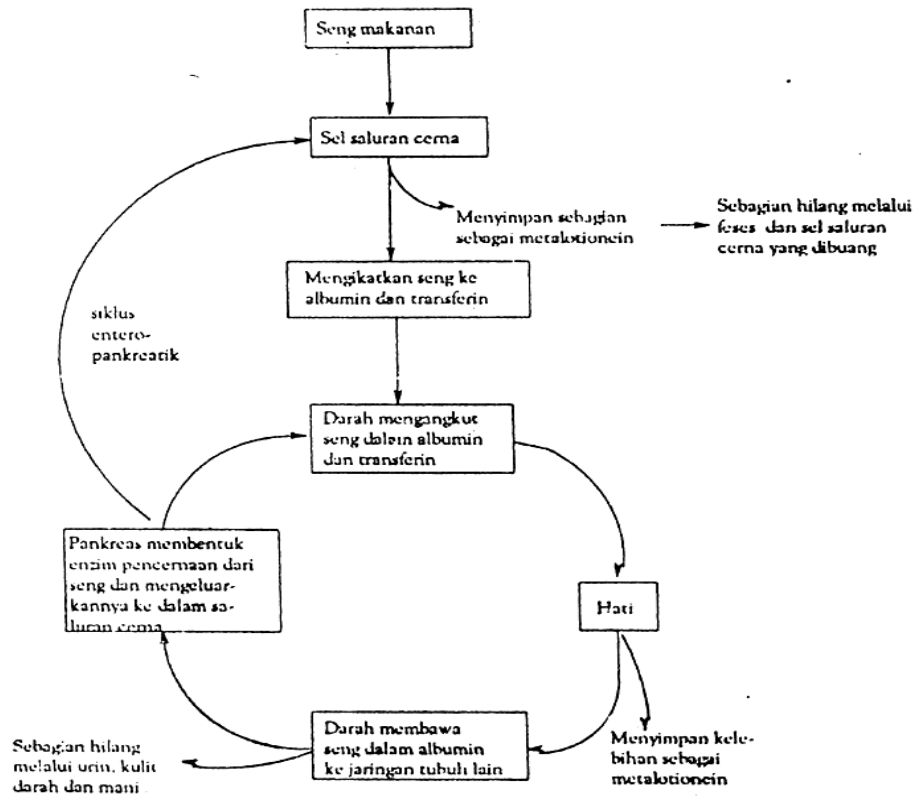
Peran penting nonenzim seng dalam protein telah diketahui dalam regulasi gen. Klug menyebut istilah “*zinc finger*” untuk menggambarkan pola ikatan asam amino di sekitar seng. Pada model ini, ikatan seng pada faktor transkripsi tertentu menghasilkan formasi *loop* (simpul) atau “*finger*” pada protein yang memungkinkan bagian yang terikat untuk mengikat DNA pada bagian gen promotor (gambar 2.1). Oleh karena itu, tanpa seng, faktor transkripsi tidak dapat mengikat DNA dan menstimulasi transkripsi gen. Bentuk *zinc-finger* membutuhkan empat asam amino residu sebagai ligand (dua sistein dan dua histidil) tiap molekul seng.⁴⁰ Kadar seng normal dalam plasma 70 – 110 µg/dL, darah mengandung 20 kali lipat karena adanya enzim karbonik-anhidrase dalam eritrosit, rambut mengandung 125 – 250 µg/g, muskulus 50 µg/g.⁴¹



Gambar 2.2. Protein *zinc-finger*

Protein *zinc-finger* penting untuk mengikat faktor transkripsi terhadap DNA. Dengan mengikat residu histidin dan sistein pada faktor transkripsi dan reseptor hormon nuklear, seng menempatkan *finger-like secondary structure* pada protein. Struktur ini memungkinkan faktor transkripsi untuk berinteraksi secara tepat dengan elemen yang berespon pada gen promoter.⁴⁰

Seng diabsorpsi di duodenum dan usus halus proksimal. Di dalam lumen intestinal, seng dari diet bercampur dengan seng dari sekresi pankreas dan hasil deskuamasi usus yang mengandung seng. Setelah *uptake* oleh sel usus, seng melintasi permukaan serosa dan secara aktif disekresikan ke dalam sirkulasi portal dimana kemudian seng terikat dengan albumin. Mekanisme ini bersifat reversibel, dan juga terjadi *uptake* seng portal oleh usus. Pada keadaan kecukupan seng, peningkatan *pool* seng memicu sintesis metalotionin sel usus, yang dapat mengikat kelebihan seng intraseluler.⁴²



Gambar 2.3. Penyaluran seng di dalam tubuh⁴²

Sumber seng dari makanan biasanya berhubungan dengan protein, kadar yang tinggi didapat dalam telur, daging unggas, daging sapi, tiram, kepiting, dan kacang-kacangan. Absorpsi seng sangat bervariasi (5% – 40%) dan tergantung tidak hanya pada kandungan seng dalam diet, tapi juga tergantung pada bioavailabilitas seng. Seng dari produk hewani merupakan seng yang mudah diserap, sedangkan seng dari produk nabati absorpsinya tergantung pada kandungan seng dari tanah dan absorpsi dalam usus dihambat oleh fitat. Inhibisi kompetitif antara besi, seng dan tembaga juga mempengaruhi absorpsi seng. ASI mengandung sedikit seng, tetapi bioavailabilitasnya tinggi dan biasanya mencukupi kebutuhan sampai bayi berusia sekitar 6 bulan. Bayi dapat menyerap kira-kira

80% seng yang terdapat dalam ASI. Susu formula mengandung seng lebih tinggi, tetapi hanya sebagian kecil yang diserap. Kombinasi antara sumber makanan berprotein tinggi dan hambatan absorpsi pada sumber makanan nabati menimbulkan kecenderungan terjadinya defisiensi pada masyarakat di negara berkembang.⁴¹

The International Zinc Consultative Group (IZiNCG) merevisi *recommended dietary allowances (RDA)* pada tahun 2004 sebagai berikut :¹⁶

Tabel. 2.3 Rekomendasi kebutuhan seng menurut usia

Kelompok	RDA seng
Bayi	4-5 mg
Anak 1-3 tahun	3 mg
Anak 4-8 tahun	4-5 mg
Perempuan yang tidak hamil	8-9 mg
Perempuan yang hamil dan menyusui	9-13 mg
Laki-laki	13-19 mg

Prevalensi defisiensi seng sulit dinilai, tapi dapat diperkirakan secara tidak langsung dari diet. Defisiensi marginal menyebabkan: hambatan pertumbuhan, gangguan pengecap (*hipogeusia*), gangguan penciuman, gangguan spermatogenesis, penekanan fungsi imun, buta senja dan gangguan memori. Defisiensi berat menyebabkan penekanan yang berat pada sistem imun, sering terkena infeksi, dermatitis bulosa pustular, diare, alopesia dan gangguan mental. Mengingat peranan seng yang besar dalam pertumbuhan sel, jaringan yang terus-menerus mengalami pergantian sel dengan cepat, seperti saluran cerna dan sistem imun akan terkena dampak yang bermakna bila terjadi kekurangan seng. Dalam hubungan dengan diare, peranan seng dapat merupakan pengaruh langsung pada sistem gastrointestinal dan melalui peranannya pada sistem imunitas.³⁹

2.2.1. Seng dan Sistem Imunitas

Pengaruh seng terhadap sistem imunitas tubuh dapat diamati secara jelas pada penderita *Acrodermatitis enteropathica*, suatu bentuk kelainan genetik autosomal resesif yang jarang, dimana penderita mengalami sindroma malabsorpsi spesifik seng. Bayi yang lahir dengan kondisi ini mengalami gejala defisiensi berat seperti lesi pada kulit, diare berat dan hilangnya rambut.⁴³ Penyakit ini sangat berdampak pada sistem imunitas tubuh, antara lain atrofi timus, penurunan jumlah limfosit terutama pada jaringan limfoid perifer dan darah, serta munculnya infeksi virus, jamur dan bakteri yang semuanya dapat diperbaiki dengan pemberian seng.⁴⁴ Terdapat juga penurunan rasio CD4+ : CD8+. Respon limfosit T seperti hipersensitivitas tipe lambat dan aktifitas sitotoksik turun selama defisiensi seng dan kembali dengan suplementasi seng.⁴⁵

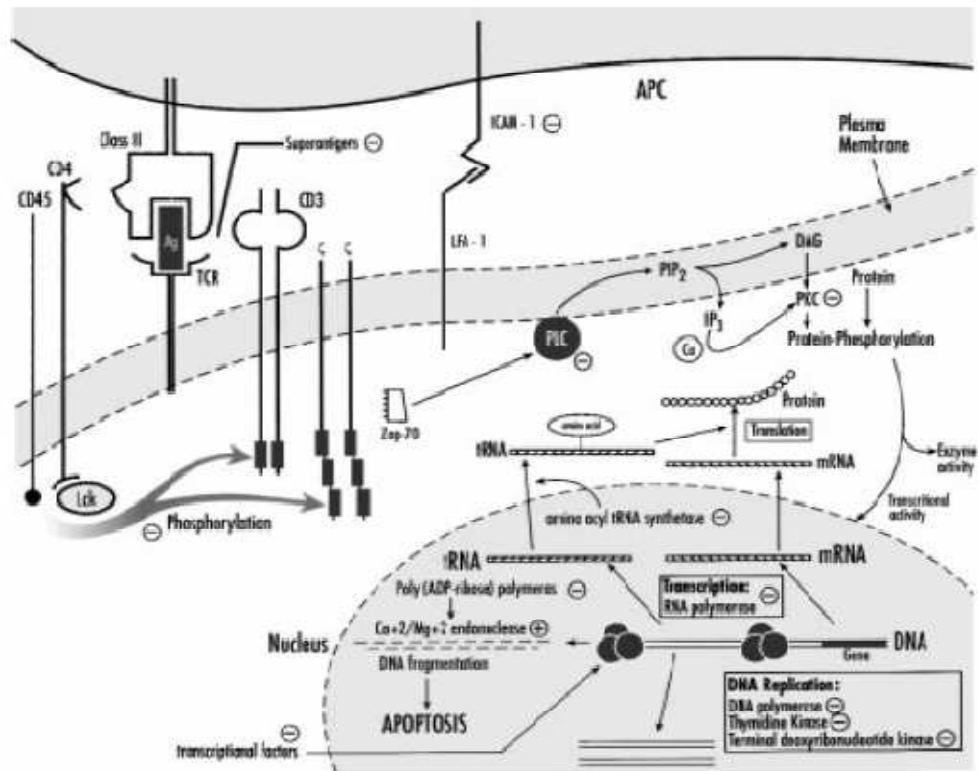
Beberapa penelitian *in vitro* memperlihatkan bahwa seng dibutuhkan dalam imunitas spesifik untuk proliferasi limfosit sebagai respon terhadap IL-1 atau IL-2. Terdapat bukti bahwa penambahan seng *in vitro* mengubah ekspresi, fungsi atau keduanya dari molekul permukaan limfosit yang mengatur interaksi sel. Dilaporkan juga bahwa seng meningkatkan transkripsi dan ekspresi molekul adhesi ICAM-1 pada permukaan sel limfosit. Perkembangan limfosit B pada sumsum tulang juga dipengaruhi oleh defisiensi seng. Limfosit B total dan prekursornya berkurang hampir 75%, pre-B dan limfosit B immatur berkurang sampai 50% dan 25%. Defisiensi seng menghalangi perkembangan limfosit B di sumsum tulang, menghasilkan jumlah limfosit B menurun di lien. Respon antibodi

limfosit B dihambat oleh defisiensi seng. Seng dibutuhkan untuk mitogenik limfosit B dan respon sitokin terhadap lipopolisakarida.⁴⁵

Defisiensi seng juga mempengaruhi sistem imunitas non spesifik. Penelitian pada manusia dan binatang menggambarkan penurunan aktifitas sel *natural killer* (NK) pada keadaan defisiensi seng. Fungsi sel NK menurun dan kemudian membaik dengan pemberian seng. Seng juga menstimulasi produksi interferon γ oleh sel NK darah perifer. Fungsi lekosit polimorfonuklear (PMN) dipengaruhi oleh defisiensi seng pada penderita *acrodermatitis enteropatica* dan tipe defisiensi seng lainnya. Jumlah lekosit PMN biasanya tidak terpengaruh, tetapi respon kemotaksis gagal dan membaik dengan pemberian seng in vitro.⁴⁵

Respon kemotaktik monosit tersupresi dan kembali setelah pemberian seng in vitro. Monosit memproduksi sitokin IL-1 β , IL-6, interferon α yang distimulasi dengan pemberian seng in vitro. Defisiensi seng mensupresi fungsi makrofag. Aktifitas makrofag diperbaiki dalam 30 menit inkubasi dengan garam seng in vitro. Perbaikan cepat dari fungsi makrofag setelah pemberian seng mendukung bahwa efek terapi suplementasi seng pada diare mungkin melibatkan beberapa aspek fungsi makrofag.⁴⁵

Defisiensi seng pada binatang memperlihatkan peningkatan apoptosis spontan dan yang dipicu oleh toksin pada banyak macam sel. Saat ini diketahui bahwa atrofi timus disertai dengan apoptosis sel timosit. Beberapa penelitian memperlihatkan bahwa seng adalah regulator apoptosis limfosit in vivo. Suplementasi seng menurunkan apoptosis yang dipicu mycotoksin pada makrofag dan limfosit T pada tikus.⁴⁵



Gambar 2.4. Pengaruh defisiensi seng pada aktivasi limfosit. Aktivasi limfosit T melalui antigen presentation class II atau melalui ikatan superantigen secara langsung pada reseptor limfosit T (TCR). Ag, antigenic peptide; APC, antigen presenting cell; Lck, p56^{lck}; PLC, phospholipase C; PIP₂, phosphatidyl inositol; IP₃, inositol triphosphate; DAG, diacylglycerol, PKC, protein kinase C; ⊖ mengindikasikan bahwa defisiensi seng menurunkan atau menghambat proses atau aktivitas; kompleks rantai CD3 reseptor limfosit T; Zap-70, associated protein-70; ⊕ mengindikasikan bahwa defisiensi seng meningkatkan proses atau aktifitas. Jalur aktivitas sel diperlihatkan terbatas dimana seng mungkin memainkan peran⁴⁵

Seng juga mengatur ekspresi pada limfosit metalotionin dan *metalotionin like protein* dengan aktifitas antioksidan. Konsentrasi seng membran sangat terpengaruh oleh diet defisiensi seng dan suplementasi. Konsentrasi seng pada sel membran penting dalam melindungi integritasnya melalui mekanisme ikatan pada kelompok thiolat. Pelepasan seng dari ikatan thiolat dapat mencegah peroksidasi lipid. Nitrit oksida memicu pelepasan seng dari metalotionin, dimana seng terikat dan protein transport utama pada tubuh manusia, yang mempunyai kerusakan

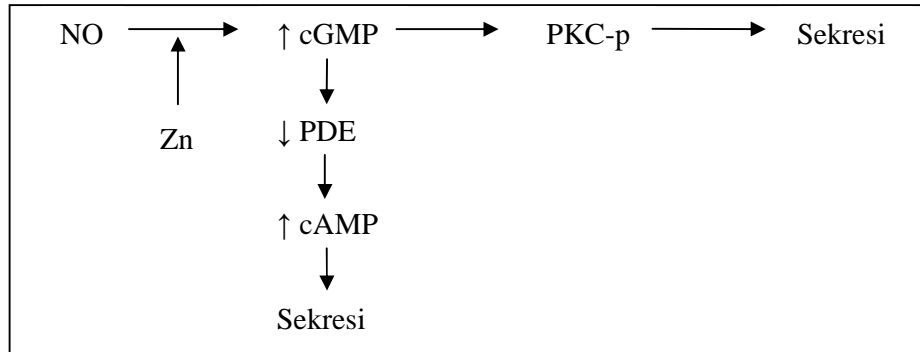
membran radikal bebas yang paling sedikit selama inflamasi.⁴⁵ Dampak akhir gangguan pada sistem imunitas ini adalah lebih rendahnya imunitas penderita terhadap berbagai infeksi. Pada saluran cerna hal ini berakibat lebih mudah terkena diare karena infeksi baik bakteri maupun virus.⁴¹

2.2.2. Seng dan Saluran Cerna

Traktus gastrointestinal merupakan salah satu organ sistem imunitas yang terbesar dalam tubuh. Kandungan limfosit dalam saluran cerna merupakan yang terbanyak diluar timus. Traktus gastrointestinal juga berfungsi sebagai barier non-spesifik terhadap invasi kuman penyakit. Sekresi mukus dan adanya perlekatan yang kuat (*tight junction*) antara sel enterosit, mencegah masuknya bakteri dan patogen lain.⁴⁶ Seng berperan dalam menjaga integritas mukosa usus melalui fungsinya dalam regenerasi sel dan stabilitas membran sel. Pada diare akut dan persisten, pemberian seng memperbaiki permeabilitas usus yang mencerminkan derajat kerusakan usus.⁷

Saat ini sering dibahas peranan nitrit oksida (NO) dalam proses terjadinya perubahan mukosa usus dan diare. NO dapat mengaktivasi pembentukan siklik-GMP (c-GMP). Selanjutnya c-GMP ini akan mengaktivasi protein kinase C (PKC) yang kemudian akan mempengaruhi sistem transport pada dinding sel (*transmembrane-transporter*) untuk mensekresi Cl. Aktivasi enzim PKC juga akan menyebabkan kontraksi sel dan relaksasi ikatan inter-epitelial (*interepithelial junction*), sehingga meningkatkan permeabilitas mukosa usus. Melalui jalur lain, peningkatan c-GMP juga akan meningkatkan c-AMP melalui proses yang serupa

akan menyebabkan diare sekresi. Seng diperkirakan berperan sebagai pembersih (*scavenger*) terhadap NO sehingga dapat menghalangi proses ini (gambar 2.3). Dalam percobaan *in vitro* memang telah dibuktikan bahwa seng dapat menghalangi pembentukan NO.^{38,46,47}



Gambar 2.5 Rangkaian reaksi biokimia akibat produksi NO dan sekresi traktus intestinal pada defisiensi seng⁴⁶

Superoxide dismutase (SOD) adalah bagian dari pertahanan alami tubuh melawan *reactive oxygen species*(ROS). Jika tidak terkontrol ROS dapat merusak DNA, protein dan lemak sel dan dapat mengubah atau menghambat fungsi sel. SOD merupakan katalisator reaksi dengan melepas superoxide : $2O_2^+ + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$. Hidrogen peroksida selanjutnya dimetabolisme oleh katalisator lain. *Cytosolic Cu/Zn-SOD* dibentuk dari dua subunit yang identik, masing-masing mengandung 1 atom tembaga dan 1 atom seng. Pada sisi aktif enzim, tembaga direduksi oleh superoksida untuk menghasilkan hidrogen peroksida. Oleh karena itu aktifitas enzim dihambat pada keadaan tidak adanya mineral tadi. Aktifitas Cu/Zn-SOD tertahan bila seng dihilangkan atau diganti dengan logam yang secara kimia serupa. Seng memberikan dua fungsi : menstabilkan struktur alami enzim dan trias *zinc-histidyl-copper* berperan sebagai donor proton selama siklus oksidasi enzim. Penelitian eksperimental memperlihatkan bahwa terjadi

pengurangan cytosolic atau Cu/Zn-SOD ekstraselular pada binatang yang makan diet rendah seng atau tembaga.⁴⁰

Defisiensi seng menurunkan produksi dan aktivitas enzim SOD dan selanjutnya meningkatkan aktivitas radikal bebas sehingga terjadi peroksidasi lemak yang berlebihan. Dampak radikal bebas pada mukosa usus adalah terjadinya atrofi mukosa melalui proses apoptosis sel mukosa usus. Atropi mukosa usus akibat defisiensi seng dapat terjadi karena menurunnya produksi dan aktivitas enzim SOD pada sel mukosa usus sehingga aktivitas radikal bebas meningkat dan dapat menyebabkan fragmentasi DNA serta dapat memicu terjadinya apoptosis sel tersebut. Apoptosis sel menyebabkan atropi vili usus.³⁸

Aktivitas radikal bebas dapat pula menyebabkan reaksi inflamasi pada mukosa usus yang memicu peningkatan TNF- α oleh sel imun kompeten. TNF- α yang tinggi akan merusak *tight junction* pada sel enterosit mukosa usus. Atropi vili usus dapat pula terpicu oleh berkurangnya IGF-1 (*insulin like growth factor-1*) dan GH (*growth hormon*) sebagai akibat defisiensi seng dan protein. Akibat kumulatif atropi usus dan rusaknya *tight junction* menyebabkan permeabilitas membran meningkat dan berakibat terganggunya absorpsi pada usus dan timbul diare.³⁸

Efek suplementasi seng memperbaiki diare dapat dijelaskan melalui efek seng yang menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara peningkatan pembentukan SOD yang merupakan enzim antioksidan utama yang meredam anion superoksida sehingga menghambat proses apoptosis di sel epitel mukosa usus. Seng juga meningkatkan pembentukan enzim ADP ribosil, DNA dan RNA

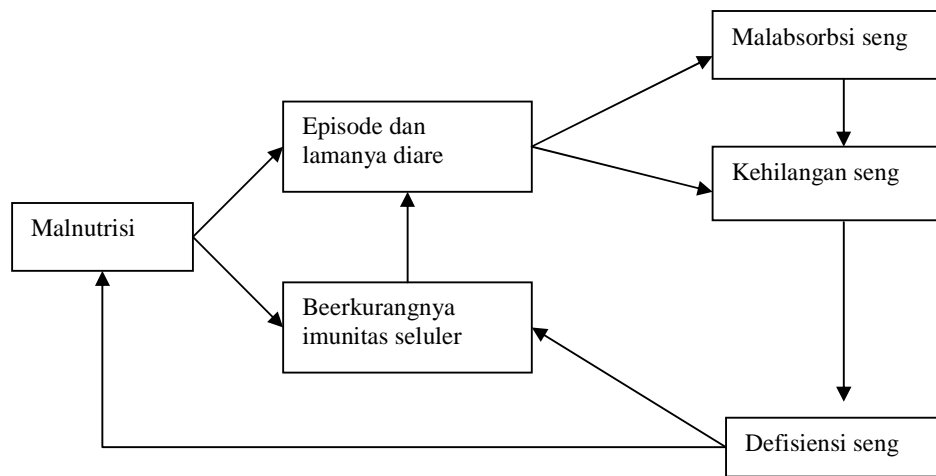
polimerase yang berperan dalam proses perbaikan dan regenerasi sel sehingga menghentikan proses apoptosis.³⁸

Terdapatnya respon imunitas pada defisiensi seng dibuktikan dengan tingginya kadar TNF- α dan IL-6 pada saat sebelum intervensi dan sebaliknya, meredanya respon imunitas ditandai oleh penurunan pada TNF- α dan IL-6 setelah pemberian seng. Seng dapat menurunkan kadar sitokin dalam serum yang berarti seng dapat turut mengontrol respon imunitas terhadap radikal bebas yang dimungkinkan oleh kemampuannya menghambat pembentukan radikal bebas. Terjadinya inflamasi mukosa usus dibuktikan oleh adanya TNF- α tinja dan berdasarkan pada peran TNF- α dapat diyakini bahwa TNF- α bertanggungjawab terhadap kerusakan mukosa usus karena sitokin ini bersifat pleotropik yang dapat merangsang inflamasi dan memberi tanda kematian/apoptosis sel.³⁸

Sitokin berperan langsung dalam pengaturan permeabilitas dan respon ion pada epitel dan TNF- α sendiri mempunyai efek langsung terhadap hampir semua fungsi sel enterosit usus termasuk transport, permeabilitas, regenerasi, dan proliferasi. Dengan pemberian seng, inflamasi mukosa usus berkurang yang dibuktikan dengan menurunnya TNF- α tinja. Seng menghambat produksi TNF- α dan IL-6. TNF- α berperan dalam mekanisme terjadinya diare pada defisiensi seng, sedangkan TNF- α tinja dan TNF- α serum dapat dipakai sebagai tanda adanya inflamasi yang memicu produksi sitokin tersebut.³⁸

Seng mempengaruhi regenerasi dan fungsi vili usus, sehingga akan berpengaruh terhadap pembentukan enzim disakaridase seperti laktase, sukrose, dan maltase. Oleh karena itu seng dapat mempengaruhi perjalanan diare osmotik

yang sebagian besar disebabkan oleh malabsorpsi dan maldigesti. Selama diare terjadi pengeluaran seng yang berlebihan. Semakin lama diare berlangsung, kadar seng dalam serum semakin rendah. Terjadilah suatu lingkaran setan antara diare, defisiensi seng, lamanya diare dan malnutrisi (Gambar 2.4) Pemberian mineral mikro seng secara oral dapat menggantikan pengeluaran seng selama diare.⁴⁸



Gambar 2.6. Hubungan antara defisiensi seng, malnutrisi dan diare⁴⁸

2.2.3. Peranan seng sebagai ko-faktor enzim

Seng mempengaruhi aktivitas berbagai enzim yang berhubungan dengan regulasi, katalitik dan struktural, seperti DNA polimerase, DNA *dependent* RNA polimerase, aminoasil tranferase RNA sintese, timidin kinase, dan *terminal deoksiribonukleotidil tranferase*. Replikasi DNA sangat berperan terhadap regenerasi epitel. Sehingga peran seng sangat menonjol pada organ yang mengalami regenerasi epitel dengan cepat seperti pada mukosa usus. Seng juga

mempengaruhi integritas sel, baik struktur maupun fungsinya, maka akan berpengaruh terhadap lamanya diare.⁴⁸

2.3. Probiotik

Probiotik didefinisikan sebagai bakteri hidup yang diberikan sebagai suplemen makanan yang mempunyai pengaruh yang menguntungkan terhadap kesehatan, dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal. Efek yang menguntungkan dari bakteri tersebut dapat mencegah dan mengobati kondisi patologik usus bila bakteri tersebut diberikan secara oral.^{18, 19}

2.3.1 Efek probiotik terhadap imunitas

Probiotik dapat meningkatkan produksi musin mukosa usus sehingga meningkatkan respons imunitas alami (*innate immunity*). Probiotik menghasilkan ion hidrogen yang akan menurunkan pH usus dengan memproduksi asam laktat sehingga menciptakan suasana yang tidak menguntungkan untuk pertumbuhan bakteri patogen.¹⁸ Efek pada respon imunitas nonspesifik seluler berupa peningkatan aktifitas fagositik oleh lekosit PMN dan mononuklear. Beberapa penelitian juga menggambarkan peningkatan fungsi makrofag.⁴⁹ 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 mengikat ke jaringan target sehingga dapat

mengaktivasi makrofag untuk membangkitkan respon imun.¹⁸ Peningkatan sekresi enzim lisosom oleh fagosit juga dilaporkan, meliputi oksigen reaktif dan nitrogen spesies. *L. acidophilus*, *B. bifidus*, *L. Rhamnosus*, dan *B. Lactis* semua meningkatkan fagositosis pada manusia, meningkatkan kemampuan netrofil untuk menghasilkan radikal oksigen. Peningkatan ekspresi reseptor yang terlibat pada fagositosis, terutama reseptor komplemen-3 (CR3). Penelitian membuktikan peningkatan jumlah sel NK atau aktifitasnya. Konsumsi secara teratur yogurt selama 28 hari meningkatkan secara progresif jumlah sel NK di darah perifer.⁴⁹

Beberapa penelitian binatang memperlihatkan peningkatan IFN- γ oleh darah dan lien (respon tipe Th1) setelah suplementasi probiotik. IFN- γ mempunyai peran sebagai mediator makrofag dan aktivasi sel NK dan merupakan faktor kunci pada ketahanan host melawan patogen intraseluler. IFN- γ juga terlibat dalam mengatur sitokin lain seperti IL-4, IL-5 dan IL-10. Dilaporkan juga peningkatan produksi IFN- α pada manusia. Beberapa strain *Lactobacilli* menstimulasi ekspresi TNF- α , IL-6 dan IL-10 oleh sel mononuklear perifer manusia (in vitro dan in vivo).⁴⁹

Efek pada respon imunitas spesifik berupa stimulasi fungsi imunitas humoral atau *cell-mediated* dengan meningkatkan sirkulasi antibodi atau mempengaruhi produksi sitokin. Konsumsi probiotik menstimulasi respon antibodi lokal/mukosa dan sistemik terhadap antigen. Anak dengan diare *Rotavirus* memperlihatkan peningkatan respon antibodi mukosa spesifik dan serum terhadap *Rotavirus* setelah pemberian *Lactobacillus*.⁴⁹ Terdapat peningkatan jumlah sel penghasil terutama IgA dan sel penghasil Ig lain.¹⁸

Probiotik dipercaya menstimulasi sistem imunitas melalui ikatan terhadap sel intestinal dan interaksi dengan GALT. Mikroflora dapat berinteraksi secara langsung dengan sel epitel imunokompeten atau secara tidak langsung melalui sel dendrit atau Peyer's patches, yang mengandung makrofag dan *antigen-presenting cell* sel B dan sel T, didesain untuk menangkap mikroba dan partikel lain yang ada di lumen usus halus sehingga sebagai sisi induktif untuk respon imunitas mukosa. Bakteri probiotik ditangkap melalui mukosa usus halus dan kemudian ditangkap oleh makrofag, yang kemudian memproduksi sitokin dan faktor lain, yang memodulasi fungsi *cell-mediated imun*. Probiotik memicu stimulasi sitokin dan mediator lain sebagai peningkatan fungsi *cell-mediated effector*, seperti peningkatan fungsi fagosit dan produksi IFN- γ . Salah satu cara probiotik dapat membantu mengurangi respon inflamasi seperti terlihat pada *Crohn' disease* dan alergi makanan adalah dengan meningkatkan produksi sitokin antiinflamasi dan mengurangi produksi sitokin proinflamasi sehingga memperkuat barier mukosa usus.⁴⁹

2.3.2. Peran probiotik pada pencegahan dan terapi penyakit gastrointestinal

Probiotik telah dibuktikan melalui penelitian efektif untuk pencegahan dan pengobatan terhadap berbagai kelainan gastrointestinal, misalnya diare oleh karena pemakaian antibiotik yang berlebihan, diare oleh karena infeksi bakteri maupun virus, intoleransi laktosa dan *traveller diarrhea*.^{18,19} Probiotik mempunyai keuntungan dalam terapi penyakit diare pada anak melalui stimulasi sistem imunitas terutama infeksi *Rotavirus* pada bayi, dimana suplementasi

probiotik mengurangi durasi penyebaran virus, meningkatkan sel yang mensekresi IgA antirotavirus, menurunkan peningkatan permeabilitas usus (yang secara normal berhubungan dengan infeksi *Rotavirus*) dan mengurangi durasi diare dan lama rawat rumah sakit.⁴⁹

Bakteri probiotik yang sering digunakan untuk memperpendek durasi diare adalah *Lactobacillus GG*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* dan *Enterococcus faecium*. Penggunaan bakteri probiotik untuk pencegahan diare oleh bakteri maupun virus tidak terlalu kuat bila dibandingkan penggunaannya untuk memperpendek diare. Mekanisme probiotik untuk meningkatkan ketahanan mukosa usus antara lain melalui stimulan imunitas mukosa usus, kompetisi untuk nutrien tertentu, mencegah adhesi mukosa dan epitel oleh bakteri patogen, mencegah invasi (translokasi) terhadap epitel usus dan produksi materi antimikrobia.¹⁸ Sejumlah mikroorganisme seperti *L.Bulgarius*, *S. thermophilus* dan *L acidophilus* ternyata mempunyai aktivitas laktase *in vivo* sehingga membantu mempercepat digesti laktosa.¹⁹

Mekanisme kerja probiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam mukosa usus diduga dengan cara kompetisi untuk mengadakan perlekatan dengan enterosit, enterosit yang telah jenuh dengan bakteri probiotik tidak dapat lagi mengadakan perlekatan dengan bakteri yang lain. Jadi dengan adanya bakteri probiotik didalam mukosa usus dapat mencegah kolonisasi bakteri patogen. Kemampuan adhesi bakteri probiotik dapat mengurangi atau menghambat adhesi bakteri lain misalnya *E. Coli* dan *Salmonella* sehingga tak terjadi kolonisasi.¹⁸

Bakteri probiotik memberi manfaat pada host karena produksi substansi antibakteri, misalnya asam organik, bakteriosin, mikrosin, reuterin, *volatile fatty acid*, hidrogen peroksida dan ion hidrogen. Epitel mukosa usus dan mikroflora usus normal merupakan barier mukosa terhadap bakteri patogen, antigen dan bahan yang merusak lumen usus. Dalam keadaan normal barier ini intak, bila epitel sel atau mikroflora normal terganggu, terjadi peningkatan permeabilitas dengan akibat invasi/translokasi patogen, antigen asing dan bahan yang membahayakan. Pemberian bakteri probiotik akan menekan reaksi inflamasi intestinal dan normalisasi permeabilitas mukosa usus dan flora usus serta dapat memperbaiki barier imunologik, terutama respon SIgA.¹⁸

2.3.3 Jenis, dosis dan lama terapi

Lactobacillus sebagai probiotik banyak digunakan sebagai probiotik karena bakteri ini lebih stabil sehingga proses penyiapannya lebih mudah dan stabilitasnya selama penyimpanan lebih terjamin.⁵⁰ Penelitian yang membandingkan efikasi 5 sediaan produk probiotik : *Lactobacillus rhamnosus* strain GG; *Saccharomyces boulardii*; *Bacillus clausii*; campuran dari *L delbrueckii* var *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *L acidophilus*, dan *Bifidobacterium bifidum*; atau *Enterococcus faecium* SF68 didapatkan durasi diare secara bermakna lebih rendah pada anak yang menerima *Lactobacillus* GG dan pada kelompok yang mendapat probiotik campuran dibandingkan kelompok yang mendapat *Saccharomyces boulardii*; *Bacillus clausii*, *Enterococcus faecium* SF68 dan yang hanya mendapat rehidrasi oral. Durasi diare pada ketiga kelompok

probiotik tersebut tidak ada perbedaan bermakna dengan kelompok yang hanya mendapat rehidrasi oral. Dari semua kelompok tidak didapatkan efek samping obat selama terapi.⁵¹

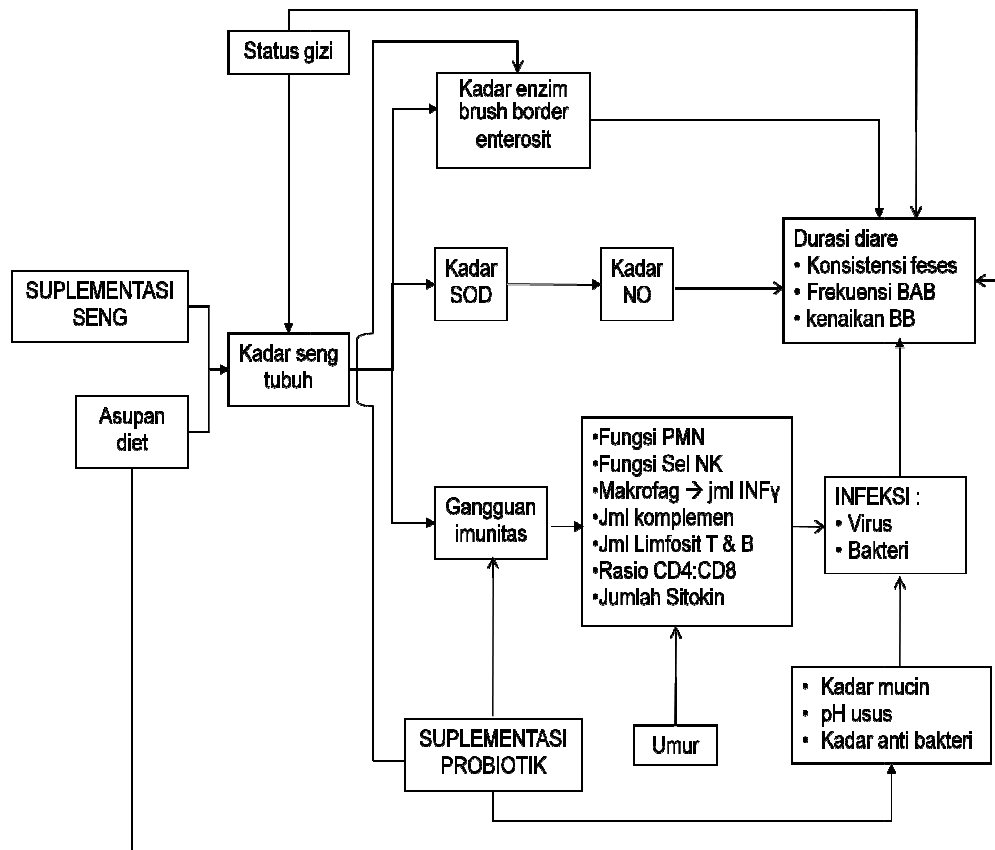
Belum ada rekomendasi dari WHO tentang dosis dan lama suplementasi probiotik pada diare akut. Dosis yang digunakan dalam berbagai penelitian berkisar antara $5.5-40 \times 10^9$ *Lactobacillus GG*, *L. sporogens* atau *Saccharomyces boulardii*. Dosis yang secara signifikan memberikan efek adalah 5×10^9 colony forming units (CFU).⁵² Lama pemberian untuk terapi rata-rata 5 hari dan untuk pencegahan diare diberikan selama minimal 6 hari.

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

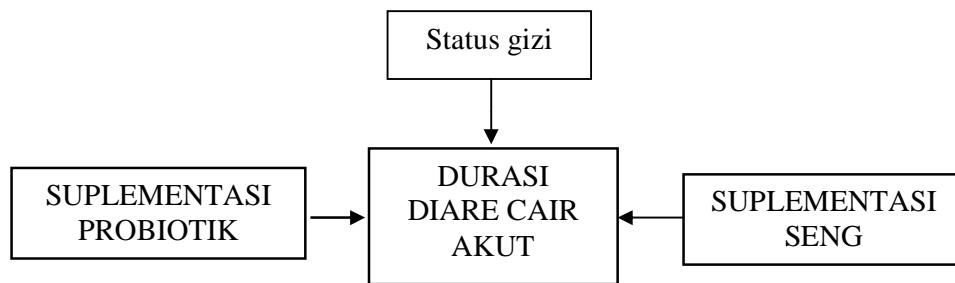
3.1 KERANGKA TEORI

Durasi diare dipengaruhi oleh umur, asupan diet, status gizi, keadaan mukosa usus yang mempengaruhi kadar enzim brush border, dan imunitas tubuh. Imunitas dipengaruhi oleh kadar seng tubuh yang berperan langsung pada imunitas saluran cerna, regenerasi epitel usus yang akan mempengaruhi kadar enzim brush border maupun sebagai antioksidan. Probiotik mempengaruhi imunitas tubuh dan kadar enzim brush border.



3.2 KERANGKA KONSEP

Penelitian ini mengukur kadar enzim brush border dengan pemeriksaan Clinitest dan Sudan III, kadar seng diperiksa dengan pemeriksaan kadar seng serum saat awal penderita datang. Variabel umur disingkirkan dengan kriteria inklusi, variabel asupan diet pada subyek penelitian sama karena penderita dalam perawatan di RS sehingga asupan diet sesuai prosedur RS. Kriteria eksklusi menyingkirkan status gizi buruk, sedangkan status gizi kurang dan gizi baik dianalisa dalam sub analisa.



3.3 HIPOTESIS

Hipotesis mayor :

Terdapat perbedaan durasi diare akut cair pada anak umur 6-24 bulan yang diberikan terapi baku, terapi baku dengan suplementasi seng, terapi baku dengan suplementasi probiotik serta terapi baku dengan suplementasi seng dan probiotik secara bersamaan.

Hipotesis minor :

1. Durasi diare akut cair pada anak usia 6-24 bulan yang mendapat terapi baku dan suplementasi seng lebih pendek dibandingkan yang mendapat terapi baku.
2. Durasi diare akut cair pada anak usia 6-24 bulan yang mendapat terapi baku dan suplementasi probiotik lebih pendek dibandingkan dengan yang mendapat terapi baku.
3. Durasi diare akut cair pada anak usia 6-24 bulan yang mendapat terapi baku dan suplementasi seng dan probiotik lebih pendek dibandingkan dengan yang mendapat terapi baku.
4. Durasi diare akut cair pada anak usia 6-24 bulan yang mendapat terapi baku dan suplementasi seng dan probiotik secara bersamaan lebih pendek dibandingkan dengan yang mendapat terapi baku dan suplementasi seng.
5. Durasi diare akut cair pada anak usia 6-24 bulan yang mendapat terapi baku dan suplementasi seng dan probiotik secara bersamaan lebih pendek dibandingkan dengan yang mendapat terapi baku dan probiotik.

BAB IV

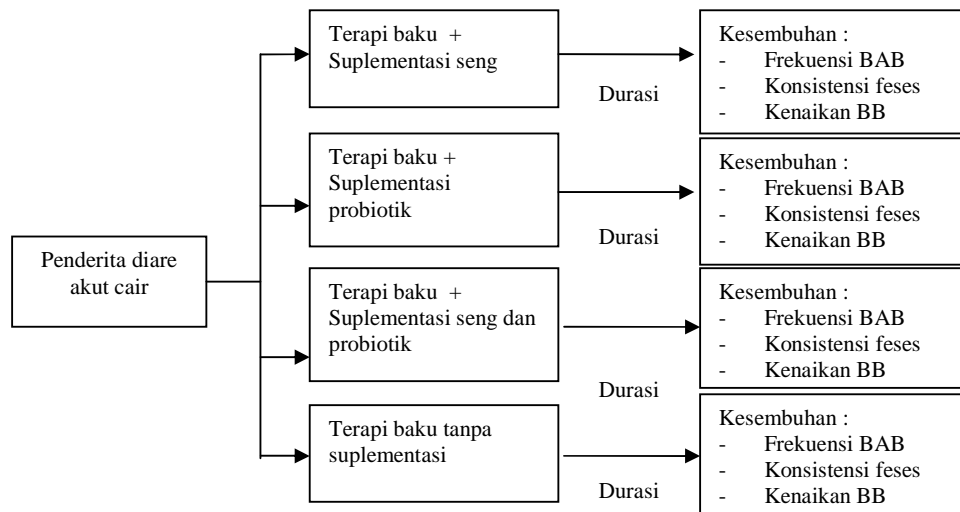
METODE PENELITIAN

4.1. Ruang Lingkup

Penelitian dilakukan selama 1 tahun di ruang perawatan sub bagian Gastroenterologi bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/ RS Dr. Kariadi Semarang

4.2. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini yaitu uji klinis secara random menggunakan kontrol. Subyek penelitian dikelompokkan menjadi empat, kelompok pertama mendapat perlakuan suplementasi seng, kelompok kedua mendapat probiotik, kelompok ketiga mendapat seng dan probiotik, serta kelompok keempat sebagai kontrol. Setiap kelompok mendapat terapi baku rehidrasi dan dietetik sesuai prosedur tetap ruangan. Diikuti selama perawatan dan dibandingkan durasi diare.



4.3. Populasi dan Subyek Penelitian

4.3.1. Populasi target

Populasi target adalah penderita diare usia 6 bulan sampai 24 bulan

4.3.2. Populasi terjangkau

Populasi terjangkau adalah penderita diare akut cair berusia 6 - 24 bulan yang menjalani perawatan di bangsal Gastroenterologi, bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas / RS Dr. Kariadi Semarang dan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Kriteria Inklusi :

1. Penderita diare akut cair dehidrasi ringan sedang berusia 6 - 24 bulan yang dirawat di bangsal Gastroenterologi, bagian IKA FK UNDIP / RS Dr. Kariadi Semarang
2. Orang tua menyetujui anaknya dilibatkan dalam penelitian
3. Bersedia mentaati prosedur penelitian dan menanda tangani *informed consent*
4. Tidak mempunyai kelainan kongenital pada saluran cerna berdasarkan anamnesis dan pemeriksaan fisik
5. Tidak menderita penyakit penyerta yang berat yaitu penurunan kesadaran, gangguan hemodinamik, gangguan kardiovaskular, gangguan respirasi berat
6. Tidak menderita gizi buruk (klinis atau antropometris)

7. Anak tidak dalam kondisi imunodefisiensi (penderita penyakit keganasan, dalam terapi sitostatika dan penderita yang sedang mendapat terapi kortikosteroid jangka panjang)

Kriteria Eksklusi :

1. Menolak mengikuti penelitian sampai selesai
2. Timbul penyakit penyerta berat selama perawatan (penurunan kesadaran, gangguan hemodinamik, gangguan kardiovaskular, gangguan respirasi berat).

4.3.3. Subyek Penelitian

4.3.3.1. Subyek Penelitian

Subyek penelitian adalah populasi terjangkau yang terpilih untuk diteliti yang berjumlah minimal sesuai perkiraan besar subyek.

4.3.3.2. Besar Subyek

Perkiraan besarnya subyek ditentukan dengan rumus uji hipotesis terhadap beda rerata dengan rumus :⁵³

$$n_1=n_2= 2[(z_\alpha + z_\beta) s / (x_1 - x_2)]^2$$

Dimana : n = jumlah subyek

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

$1 - \beta$ = power, $\beta = 0,2 \rightarrow z_\beta = 0,842$

s = simpang baku pada kedua kelompok

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

Penelitian suplementasi seng didapatkan rerata durasi diare 1,2 hari pada kelompok yang mendapat suplementasi seng dan 2,5 hari pada kelompok yang mendapat plasebo, dengan simpang baku 1,3.⁵⁴ Bila ketepatan perbedaan durasi diare antara kedua kelompok sebesar 1,3 hari dan dikehendaki interval kepercayaan 95% dan *power* sebesar 80% maka jumlah subyek dapat dihitung sebagai berikut

$$n_1 = n_2 = 2 \left[(1,96 + 0,842) \frac{1,3}{1,3} \right]^2 \rightarrow n = 15,7$$

Penelitian suplementasi probiotik didapatkan durasi diare 2,9 hari pada kelompok yang mendapat suplementasi probiotik dan 3,9 hari pada kelompok yang mendapat plasebo, dengan simpang baku 0,8.²⁰ Bila ketepatan perbedaan durasi diare antara kedua kelompok sebesar 1 hari dan dikehendaki interval kepercayaan 95% dan *power* sebesar 80% maka jumlah subyek dapat dihitung sebagai berikut :

$$n_1 = n_2 = 2 \left[(1,96 + 0,842) \frac{0,8}{1} \right]^2 \rightarrow n = 10$$

Jumlah subyek dipilih yang terbesar, sehingga dipilih perhitungan subyek menurut penelitian suplementasi seng yaitu $n = 15,7$. Perhitungan jumlah subyek minimal setelah dikoreksi kemungkinan *drop out* 10% menggunakan rumus :⁵³

$$n' = n / (1 - f) \quad \text{Dimana } n' = \text{besar subyek yang direncanakan diteliti}$$

$$n = \text{besar subyek yang dihitung}$$

$$f = \text{perkiraan proporsi drop out}$$

$$n' = 15,7 / (1 - 0,1) \rightarrow n' = 17,4$$

sehingga jumlah subyek minimal setelah dikoreksi kemungkinan *drop out* 10% adalah 18 untuk masing-masing kelompok

4.3.3.3. Cara Pengambilan Subyek

Pengambilan subyek secara konsekutif. Penderita diare yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dimasukkan dalam penelitian. Kemudian secara acak dialokasikan menjadi 4 kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok yang mendapat terapi baku dan suplementasi seng, kelompok kedua adalah kelompok yang mendapat terapi baku dan suplementasi probiotik, kelompok ketiga adalah kelompok yang mendapat terapi baku dan suplementasi seng dan probiotik serta kelompok keempat adalah kelompok yang mendapat terapi baku dan tidak mendapat perlakuan.

4.3.3.4. Randomisasi

Randomisasi dilakukan dengan cara randomisasi blok.⁵⁵

4.4. Variabel penelitian

4.4.1. Variabel bebas

- Pemberian suplementasi seng
- Pemberian suplementasi probiotik
- Pemberian suplementasi seng dan probiotik

4.4.2. Variabel tergantung

- Durasi diare

4.4.3. Variabel perancu

- Status gizi

4.5. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Satuan/Kategori	Skala
1.	Pemberian Seng	Pemberian Tablet Diazink® dosis 20 mg/hari, selama 10 hari	Diberi / tidak diberi	nominal
2.	Pemberian Probiotik	Pemberian Tablet Lacto-B ® dosis 3×10^8 CFU selama 10 hari	Diberi / tidak diberi	nominal
3.	Durasi diare	Lama waktu mulai saat masuk rumah sakit sampai saat pertama konsistensi feses menjadi lembek dan atau frekuensi < 3x dalam sehari yang diikuti keadaan yang menetap minimal 2 x 24 jam	Jam	interval
4.	Lama sakit	Lama waktu mulai saat pertama kali BAB cair/lembek cair sampai saat pertama konsistensi feses menjadi lembek dan atau frekuensi < 3x dalam sehari yang diikuti keadaan yang menetap minimal 2 x 24 jam	Jam	interval
5.	Kenaikan BB	Selisih berat badan saat mulai dirawat dengan berat badan setelah dinyatakan sembuh	gram	rasio
6.	Umur	Selisih bulan kelahiran dengan bulan saat pemeriksaan	bulan	interval
7.	Status gizi	Pengukuran antropometris BB/TB sesuai Z-score (gizi kurang: WHZ < -2 SD dan > -3SD ; gizi baik WHZ > -2SD dan < 2 SD; gizi lebih > 2 SD)	Gizi kurang Gizi baik Gizi lebih	ordinal
8.	Intoleransi	Hasil pemeriksaan laboratorium clinitest dan atau sudan III pada feses > ++	Ada / tidak ada	nominal

4.6. Bahan dan Alat

4.6.1. Bahan

- Suplementasi seng menggunakan tablet seng (Diazink® 20 mg) produksi Kimia Farma yang tiap tabletnya berisi 20 mg seng elemental . Pemilihan produk ini karena merupakan tablet seng yang saat ini sudah ada dan dapat diberikan sebagai tablet dispersibel, dosis sesuai yang direkomendasikan WHO.
- Suplementasi probiotik yang digunakan adalah Lacto-B® produksi Novell Pharma yang tiap sachetnya berisi lebih dari 10.000.000 *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus faecium*, vitamin C 10 mg, vitamin B1 0,5 mg, vitamin B2 0,5 mg, vitamin B6 0,5 dan Niacin 2 mg. Pemilihan produk ini karena stabil dalam penyimpanan, sudah beredar luas, dan mudah didapat.

4.6.2. Alat

- Pemeriksaan kadar seng serum
Pemeriksaan kadar seng serum menggunakan AAS (*Atomic Absorbtion Spectrophotometer*) di laboratorium GAKI Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Lembar pemantauan penelitian
Lembar pemantauan berisi kolom hari , tanggal, jam, konsistensi feses, obat, keluhan dan kenaikan berat badan. Lembar pemantauan diisi oleh petugas, sejak penderita dirawat sampai konsistensi feses lembek.

- Timbangan berat badan

Pengukur berat badan memakai timbangan merk One Med®.

Penimbangan dilakukan dengan posisi berbaring atau duduk tanpa pakaian. Penimbangan dilakukan oleh seorang petugas. Pembacaan berat badan dalam gram dengan kepekaan 100 gram.

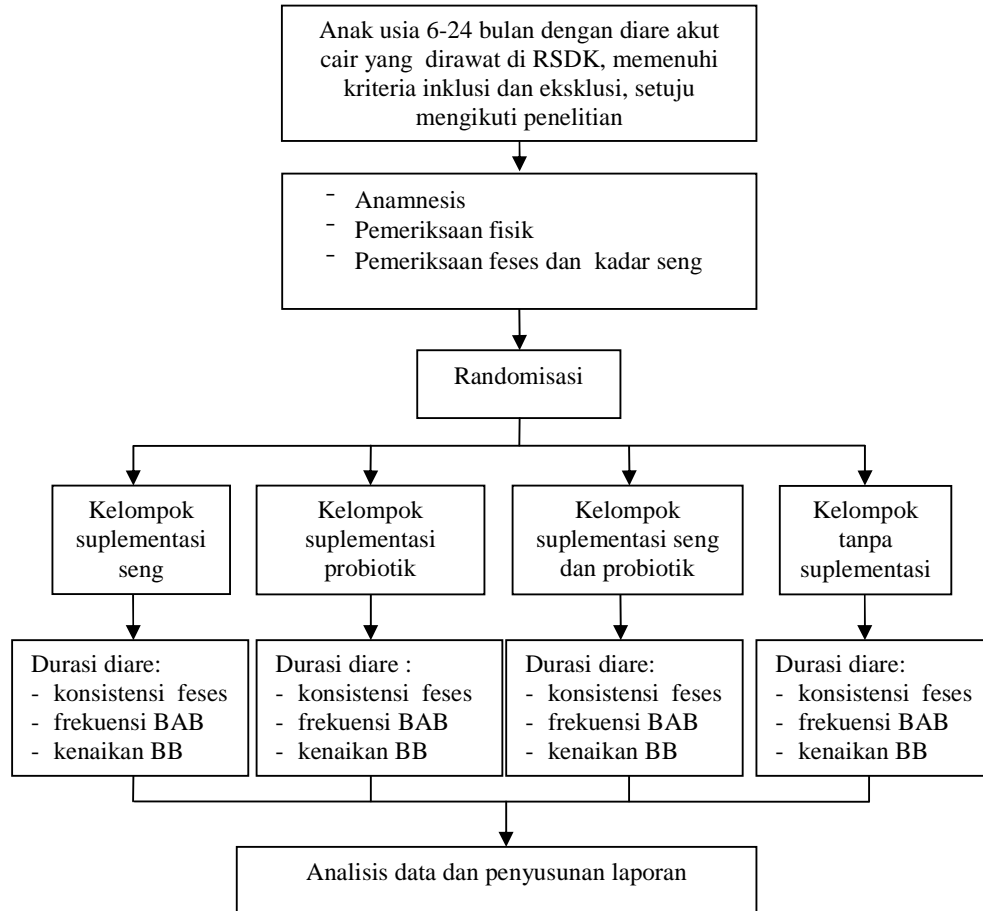
4.7. Cara Kerja

1. Setelah mendapat persetujuan dari orang tua atau wali, penderita yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi ikut dalam penelitian
2. Dilakukan anamnesis keluhan utama, keluhan penyerta, perjalanan penyakit dan pengobatan yang telah diberikan serta dicatat dalam formulir penelitian
3. Dilakukan pengukuran antropometri, pemeriksaan tanda-tanda vital, derajat dehidrasi dan penyakit penyerta lainnya saat penderita mulai dirawat
4. Dilakukan pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan kadar seng serum dan pengambilan sampel feses untuk pemeriksaan feses rutin, clinitest dan sudan III.
5. Semua penderita mendapatkan terapi baku berupa pemberian rehidrasi dan diet sesuai prosedur tetap ruangan
6. Penderita dibagi secara acak dengan randomisasi blok menjadi empat kelompok.
7. Suplementasi seng diberikan oleh seorang petugas pemberi obat 1x per hari (jam 06.00) Pemberian probiotik diberikan oleh petugas 3x per hari (jam 06.00, 13.00, 20.00). Pemberian seng dan probiotik diberikan oleh petugas 3x

per hari yaitu seng diberikan 1x (jam 06.00) probiotik dibagi 2x pemberian (jam 13.00 dan 20.00)

8. Suplementasi tidak diberikan bersamaan dengan makanan untuk menghindari pengaruh makanan pada absorpsi suplemen. Bila penderita muntah dalam jarak 1 jam setelah minum suplemen, pemberian suplemen diulang lagi dengan dosis yang sama.
9. Semua obat disediakan oleh petugas penyedia obat.
10. Dicatat durasi diare dalam jam sejak penderita dirawat inap sampai konsistensi feses menjadi lembek dan atau frekuensi $< 3x / \text{hari}$
11. Selama perawatan penderita tidak memakai diapers agar frekuensi feses dapat dihitung
12. Dilakukan penimbangan berat badan sebelum penderita pulang.

4.8. Alur Penelitian



4.9. Cara Pengolahan Data

Data dianalisis menggunakan komputer dengan program SPSS 17.0

1. Perbandingan proporsi tiap kelompok subyek dibandingkan dengan menggunakan *Chi-Square test*
2. Uji beda rerata untuk membandingkan rerata durasi diare dari tiap kelompok, menggunakan uji *one way Anova*

3. Uji beda rerata untuk membandingkan rerata durasi diare antara 2 kelompok menggunakan uji *independent t test*
4. Perbedaan antara dua kelompok bermakna bila $p < 0,05$ dengan interval kepercayaan 95% dengan *power* 80%.

4.10 Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan ijin *Ethical Clearance* dari Komisi Etika Penelitian Kedokteran FK UNDIP / RS Dr. Kariadi Semarang dengan nomer kode etik 14 /EC/FK/RSDK/2009 (terlampir)

Persetujuan untuk diikutsertakan dalam penelitian dimintakan dari orangtua penderita secara tertulis dengan menggunakan *Informed Consent*. Orangtua penderita sebelumnya telah diberikan penjelasan secara rinci tentang tujuan dan prosedur penelitian. Orang tua penderita berhak untuk menolak diikutsertakan ataupun keluar dari penelitian kapanpun juga tanpa ada konsekuensi pada pengobatan yang diterima anak.

Seluruh biaya yang dipergunakan untuk penelitian berasal dari bantuan dana penelitian DIPA FK UNDIP 2009. Responden tidak dibebani biaya tambahan apapun untuk penelitian. Identitas penderita akan dijamin kerahasiaannya.

BAB V

HASIL PENELITIAN

Jumlah subyek penelitian setelah melewati kriteria inklusi dan eksklusi sebanyak 77 anak. Subyek berasal dari anak yang dirawat di bangsal anak RS Dr. Kariadi Semarang mulai bulan Mei sampai Desember 2009. Rerata umur dalam bulan adalah $10,1 \text{ bulan} \pm 3,6$ dengan umur termuda 6 bulan dan tertua 22 bulan. Hasil uji Anova menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna pada rerata umur antar kelompok ($p=0,39$). Empat puluh anak (51,9%) berjenis kelamin laki-laki dan 37 anak (48,1%) perempuan. Uji Chi-Square menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada distribusi jenis kelamin antar kelompok ($p=0,28$).

Status gizi subyek ditentukan berdasarkan Z score WHO Anthro 2005 dengan kriteria gizi baik yaitu $WHZ > -2 \text{ SD}$ dan $< 2 \text{ SD}$, gizi kurang $WHZ < -2 \text{ SD}$ dan $> -3SD$. Status gizi baik 65 anak (84,4%) dan gizi kurang 12 anak (15,6%). Tidak didapatkan perbedaan bermakna dari uji Chi-Square pada distribusi status gizi antar kelompok ($p=0,88$).

Rerata usia ibu adalah $28,3 \text{ tahun} \pm 5,2$, dengan usia termuda 19 tahun dan tertua 41 tahun. Tidak didapatkan perbedaan bermakna usia ibu antar kelompok dari hasil uji Anova. Tingkat pendidikan ibu terbanyak adalah SMA sebanyak 50 orang (64,9%), SMP sebanyak 15 orang (19,5%), SD sebanyak 8 orang (10,4%) dan paling sedikit adalah sarjana sebanyak 4 orang (5,2%).

Distribusi pendidikan berdasarkan kelompok seperti pada gambar 5.3. Tidak didapatkan perbedaan bermakna dari uji *Chi-Square* pada tingkat

pendidikan ibu antar kelompok ($p=0,37$). Status sosial ekonomi ditentukan berdasarkan indikator kemiskinan menurut Badan Pusat Statistik (BPS) dimana dikatakan miskin apabila memenuhi salah satu dari 16 indikator kemiskinan. Dari keseluruhan subyek adalah anak dengan sosial ekonomi kurang.

Kriteria anemia pada subyek ditentukan berdasarkan pada ketentuan WHO sesuai usia 6-24 bulan, yaitu anemia bila Hb < 11 gr%. Rerata Hb adalah $10,7 \pm 1,1$ gr% dengan didapatkan anak dengan anemi sebanyak 44 anak (57,1%). Tidak didapatkan perbedaan bermakna dari uji *Chi-Square* pada jumlah anemi antar kelompok ($p=0,97$). Riwayat pemberian ASI eksklusif (6 bulan) hanya ada pada 9 subyek (11,1%), terbanyak adalah pemberian ASI + susu formula yaitu 40 subyek (49,4%) dan susu formula saja pada 28 subyek (34,6%). Tidak didapatkan perbedaan bermakna dari uji *Chi-Square* antar kelompok berdasarkan riwayat pemberian ASI ($p=0,54$).

Selama perawatan subyek yang mendapatkan antibiotik untuk penyakit penyerta sebanyak 25 orang (32,5%) yaitu 23 orang dengan antibiotik injeksi dan 2 orang dengan antibiotik peroral. Tidak didapatkan perbedaan bermakna dari uji *Chi-Square* pada pemberian antibiotik antar kelompok ($p=0,32$).

Intoleransi laktosa ditentukan berdasarkan hasil pemeriksaan *clinitest* feses $> +2$, intoleransi lemak ditentukan berdasarkan hasil pemeriksaan sudan III $> +2$. Tidak didapatkan kejadian intoleransi laktosa maupun lemak dari keseluruhan subyek. Didapatkan hasil *clinitest* +1 sebanyak 6 (7,8%) dan +2 sebanyak 3 (3,9%). Hasil sudan III +1 sebanyak 24 (31,2%). Asupan diet pada semua subyek

berasal dari makanan yang disediakan oleh rumah sakit. Tidak ada perbedaan asupan diet yang diberikan antar kelompok perlakuan.

Lama sakit sebelum dirawat di RS dihitung dari selisih saat buang air besar (BAB) cair atau cair lembek pertama kali berdasarkan anamnesis dengan saat masuk UGD RS Dr. Kariadi Semarang dinyatakan dalam jam. Rerata lama sakit sebelum dirawat di RS adalah 36,1 jam \pm 25,2 dengan waktu terlama 103 jam dan terpendek 0 jam. Hasil uji Anova menunjukkan tidak didapatkan perbedaan bermakna pada beda rerata lama sakit sebelum dirawat di RS antar kelompok.

Kadar seng serum diukur dengan menggunakan alat AAS dengan sampel darah yang diambil saat subyek datang ke UGD RSDK. Rerata kadar seng serum adalah 186,8 $\mu\text{g/dl}$ \pm 53,4 dengan kadar terendah 71,3 $\mu\text{g/dl}$ dan kadar tertinggi 363 $\mu\text{g/dl}$. Hasil uji Anova menunjukkan tidak didapatkan perbedaan bermakna pada beda rerata kadar seng serum antar kelompok. Karakteristik subyek penelitian dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1. Karakteristik subyek berdasarkan kelompok

No	Karakteristik	Kontrol		Seng		Probiotik		Seng-probiotik		Nilai p
		n=20	(%)	n=19	(%)	n=19	(%)	n=19	(%)	
1	Jenis kelamin									
	Laki-laki	8	38,9	12	68,8	8	46,7	12	62,5	0,28*
	Perempuan	12	61,1	7	31,3	11	53,3	7	37,5	
2	Rerata umur	9.7		9.6		9.9		11.4		0.39**
3	Riwayat ASI									
	Tidak pernah	5	25.0	10	52.6	6	31.6	7	36.8	0.54*
	ASI + formula	12	60.0	7	36.8	12	63.2	9	47.4	
	ASI eksklusif	3	15.0	2	10.5	1	5.3	3	15.8	
	6 bulan									
4	Status gizi									
	Gizi baik	16	80.0	16	84.2	17	89.5	16	84.2	0,88*
	Gizi kurang	4	20.0	3	15.8	2	10.5	3	15.8	
5	Pendidikan ibu									
	SD	5	25.0	1	5.3	0	0	2	10.5	
	SMP	5	25.0	2	10.5	4	21.1	4	21.1	0,37*
	SMA	9	45.0	15	78.9	14	73.7	12	63.2	
	PT	1	5.0	1	5.3	1	5.3	1	5.3	
6	Rerata umur ibu	29.9		27.0		27.7		28.6		0.34**
7	Kadar Hb									
	Anemia (Hb<11gr%)	12	60.0	10	52.6	11	57.9	11	57.9	
	Normal (Hb>11gr%)	8	40.0	9	47.4	8	42.1	8	42.1	0,97**
8	Pemberian antibiotik									
	Tanpa antibiotik	12	61,1	11	50,0	17	86,7	12	56,3	
	Antibiotik injeksi	7	33,3	7	43,8	2	13,3	7	43,8	0,37*
	Antibiotik oral	1	5,6	1	6,3	0	0	0	0	
9	Rerata lama sakit sebelum masuk RS (jam)	35.0		35.8		39.7		33.7		0.90**
10	Rerata kadar seng serum (µg/dl)	184.3		173.9		179.9		209.1		0.19**

* Uji Chi square ** Uji Anova

Durasi diare dihitung dari selisih saat masuk UGD RS Dr. Kariadi

Semarang dengan saat pertama kali konsistensi feses menjadi lembek dan atau

frekuensi < 3x dalam sehari yang diikuti keadaan yang menetap minimal 2 x 24 jam berdasarkan pengamatan pengamat dan laporan orangtua dinyatakan dalam jam. Rerata lama rawat adalah 72,5 jam \pm 25,5 dengan waktu terpendek 21 jam dan terlama 137 jam. Diantara keempat kelompok didapatkan waktu terpendek pada kelompok seng dan probiotik, diikuti kelompok seng, probiotik dan terlama pada kelompok kontrol. Hasil uji Anova menunjukkan tidak didapatkan perbedaan bermakna pada lama rawat antar kelompok ($p=0,15$).

Lama sakit dihitung dari selisih saat BAB cair atau cair lembek pertama kali berdasarkan anamnesis dengan saat pertama kali konsistensi feses menjadi lembek dan atau frekuensi < 3x dalam sehari yang diikuti keadaan yang menetap minimal 2 x 24 jam berdasarkan pengamatan pengamat dan laporan orangtua. Rerata lama sakit adalah 108,8 jam \pm 26,1 dengan waktu terpendek 44 jam dan terlama 178 jam. Diantara keempat kelompok didapatkan waktu terpendek pada kelompok seng dan probiotik, diikuti kelompok seng, probiotik dan terlama pada kelompok kontrol. Hasil uji Anova menunjukkan tidak didapatkan perbedaan bermakna pada lama sakit antar kelompok ($p=0,29$).

Tabel 5.2. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antar kelompok

No		Kon- trol	SD	Seng	SD	Pro- biotik	SD	Seng- pro- biotik	SD	p*
1	Rerata durasi diare	83.8	30.9	68.6	24.1	68.8	23.7	68.3	19.8	0.15
2	Rerata lama sakit	117.7	31.1	105.8	22.8	108.8	22.3	102.2	26.3	0.29

* Uji Anova

Didapatkan pemendekan durasi diare dan lama sakit pada kelompok seng dibandingkan kelompok kontrol tetapi tidak didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ($p=0,06$).

Tabel 5.3. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antara kelompok kontrol dan kelompok seng

No		Kontrol	SD	Seng	SD	Nilai p*
1	Rerata durasi diare	83.8	30.9	68.6	24.1	0.06
2	Rerata lama sakit	117.7	31.1	105.8	22.8	0.15

* Uji *independent t test*

Didapatkan pemendekan durasi diare dan lama sakit pada kelompok probiotik dibandingkan kelompok kontrol tetapi tidak didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ($p=0,07$).

Tabel 5.4. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antara kelompok kontrol dan kelompok probiotik

No		Kontrol	SD	Probiotik	SD	Nilai p*
1	Rerata durasi diare	83.8	30.9	68.8	23.7	0.07
2	Rerata lama sakit	117.7	31.1	108.8	22.3	0.28

* Uji *independent t test*

Tabel 5.5 menunjukkan didapatkan pemendekan durasi diare dan lama sakit pada kelompok seng-probiotik dibandingkan kelompok kontrol tetapi tidak didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ($p=0,06$).

Tabel 5.5. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antara kelompok kontrol dan kelompok seng-probiotik

No		Kontrol	SD	Seng-probiotik	SD	Nilai p*
1	Rerata durasi diare	83.8	30.9	68.3	19.8	0.06
2	Rerata lama sakit	117.7	31.1	102.2	26.3	0.07

* Uji *independent t test*

Tabel 5.6 menunjukkan tidak didapatkan perbedaan durasi diare dan lama sakit antara kelompok seng dan kelompok seng-probiotik ($p=0,95$)

Tabel 5.6. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antara kelompok seng dan kelompok seng-probiotik

No		Seng	SD	Seng-probiotik	SD	Nilai p*
1	Rerata durasi diare	68.6	24.1	68.3	19.8	0.95
2	Rerata lama sakit	105.8	22.8	102.2	26.3	0.67

* Uji *independent t test*

Tabel 5.7 menunjukkan tidak didapatkan perbedaan durasi diare dan lama sakit antara kelompok probiotik dan kelompok seng-probiotik ($p=0,96$)

Tabel 5.7. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antara kelompok probiotik dan kelompok seng-probiotik

No		Probiotik	SD	Seng-probiotik	SD	Nilai p*
1	Rerata durasi diare	68.8	23.7	68.3	19.8	0.96
2	Rerata lama sakit	108.8	22.3	102.2	26.3	0.44

* Uji *independent t test*

Dibandingkan kelompok kontrol, kelompok suplementasi mempunyai durasi diare dan lama sakit yang lebih pendek dengan perbedaan bermakna pada durasi diare.

Tabel 5.8. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antara kelompok kontrol dan kelompok suplementasi

No		Kontrol	SD	Suplementasi	SD	Nilai p*
1	Rerata durasi diare	83.8	23.7	68.7	22.2	0.02
2	Rerata lama sakit	117.7	22.3	105.6	23.6	0.07

* Uji *independent t test*

Subyek dengan gizi baik ($n=65$) tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna pada durasi diare dan lama sakit antar kelompok.

Tabel 5.9. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit antar kelompok pada subyek dengan gizi baik

No		Kon- trol	SD	Seng	SD	Probi- otik	SD	Seng- probi- otik	SD	p*
1	Rerata durasi diare	87,4	32,9	66,5	24,8	69,1	24,8	68,4	20,5	0,09
2	Rerata lama sakit	116,6	34,0	103,7	23,2	110,1	26,2	101,6	26,2	0,37

* Uji Anova

Kelompok perlakuan dapat menerima semua suplementasi yang diberikan. Pada anak yang mengalami muntah, pemberian suplementasi diulang sehingga dosis suplementasi yang diterima sesuai dengan yang ditentukan. Efek samping

pemberian seng adalah gangguan pencernaan, pusing, dan mual. Tidak didapatkan efek samping suplementasi yang dilaporkan pada semua kelompok perlakuan.

BAB VI

PEMBAHASAN

Populasi penelitian terdiri dari anak umur 6 – 24 bulan. Hal ini sesuai hasil survei diare tahun 1990 di Kecamatan Beringin Kabupaten Semarang yang mendapatkan kejadian diare tertinggi pada golongan umur 6 – 24 bulan. Keadaan tersebut terjadi sangat mungkin karena umur 6 – 24 bulan jumlah air susu ibu sudah mulai berkurang dan pemberian makanan sapih yang kurang nilai gizinya serta nilai kebersihannya.³¹ Penelitian ini mengambil batasan umur termuda 6 bulan karena pengaruh pemberian ASI eksklusif dapat disingkirkan. Batasan umur tertua adalah 2 tahun karena faktor usia berpengaruh terhadap imunitas sehingga akan mempengaruhi derajat sakit. Rerata umur subyek pada penelitian ini adalah 10,1 bulan \pm 3,6 dengan umur termuda 6 bulan dan tertua 22 bulan. Subyek terdiri dari 40 anak (51,9%) berjenis kelamin laki-laki dan 37 anak (48,1%) perempuan. Hal ini sesuai dengan banyak penelitian epidemiologi diare yang tidak menemukan perbedaan jenis kelamin pada insiden dan beratnya diare.

Status gizi dapat menggambarkan tingkat imunitas sehingga sangat mempengaruhi derajat sakit. Suplementasi akan sangat berguna pada kasus dengan status gizi dan imunitas kurang sehingga akan didapatkan perbedaan yang bermakna dibandingkan gizi kurang tanpa suplementasi. Penelitian di Palembang mendapatkan kelompok dengan defisiensi seng yang mendapat suplementasi terdapat pemendekan durasi diare sebesar 23 jam dibanding kelompok tanpa defisiensi seng. Gizi kurang yang mendapat suplementasi seng mendapatkan

pemendekan bermakna sebesar 36 jam.⁴¹ Status gizi baik pada penelitian ini didapatkan 65 anak (84,4%) sedangkan gizi kurang 12 anak (15,6%). Tidak didapatkan perbedaan bermakna distribusi status gizi pada keempat kelompok, sehingga faktor status gizi sebagai faktor perancu dapat disingkirkan.

Status gizi buruk tidak diambil sebagai subyek penelitian karena banyaknya faktor yang berpengaruh terhadap derajat sakit anak dengan gizi buruk yang sulit disingkirkan sebagai faktor perancu. Malnutrisi mengakibatkan kerusakan barrier mukosa sehingga meningkatkan kerentanan terhadap infeksi. Malnutrisi juga mengganggu produksi dan maturasi dari enterosit baru sehingga mengubah morfologi intestinal.³⁷ Diare pada anak dengan malnutrisi cenderung lebih berat, lebih lama dan angka kematiannya lebih tinggi dibandingkan dengan diare pada anak dengan gizi baik, hal ini karena terjadi perubahan morfologi dan fisiologis pada usus dengan malnutrisi yang mempengaruhi perjalanan penyakit sehingga memerlukan penyesuaian pada tatalaksananya. Pada umumnya spektrum etiologi diare pada malnutrisi sama dengan yang ditemukan pada anak gizi baik tetapi dengan berkurangnya imunitas pada malnutrisi berat, kemungkinan munculnya diare akibat kuman fakultatif patogen menjadi lebih besar. Demikian pula peranan penyebab “ bukan infeksi” menjadi lebih besar.⁵⁶

Sesuai dengan data WHO, sekitar 50% anak berumur antara enam bulan sampai lima tahun di negara berkembang menderita anemia ($Hb < 11g/dl$) dan secara umum penyebab utamanya adalah defisiensi besi. Defisiensi zat gizi dapat menimbulkan penekanan fungsi imun sehingga memudahkan terjadinya infeksi dan lamanya penyembuhan. Kriteria anemia pada subyek ditentukan berdasarkan

pada ketentuan menurut WHO sesuai usia 6-24 bulan, yaitu anemia bila Hb < 11 gr%. Penelitian ini mendapatkan anak dengan anemi sebanyak 44 anak (57,1%). Rerata Hb adalah $10,7 \pm 1,1$ gr%. Tidak didapatkan perbedaan bermakna pada jumlah anemi antar kelompok sehingga anemia sebagai faktor perancu dapat disingkirkan.

ASI eksklusif dapat melindungi saluran cerna dari infeksi dan intoleransi. ASI mengandung laktooksidase dan asam neuraminik yang mempunyai sifat antibakterial terhadap *E.coli* dan *Staphylococcus*.³³ Riwayat pemberian ASI eksklusif (6 bulan) hanya ada pada 9 subyek (11,1%), terbanyak adalah pemberian ASI + susu formula yaitu 40 subyek (49,4%) dan susu formula saja pada 28 subyek (34,6). Tidak didapatkan perbedaan bermakna antar kelompok berdasarkan riwayat pemberian ASI, sehingga riwayat pemberian ASI eksklusif sebagai faktor perancu pada penelitian ini dapat disingkirkan.

Status sosial ekonomi dan pendidikan ibu dapat mempengaruhi status gizi dan imunitas anak sehingga secara tidak langsung mempengaruhi derajat sakit. Rerata usia ibu adalah 28,3 tahun $\pm 5,2$, dengan usia termuda 19 tahun dan tertua 41 tahun. Tidak didapatkan perbedaan bermakna usia ibu antar kelompok. Dari keseluruhan subyek, tingkat pendidikan ibu terbanyak adalah SMA sebanyak 50 orang (64,9%), SMP sebanyak 15 orang (19,5%), SD sebanyak 8 orang (10,4%) dan paling sedikit adalah sarjana sebanyak 4 orang (5,2%). Tidak didapatkan perbedaan bermakna pada tingkat pendidikan ibu antar kelompok. Seluruh subyek adalah anak dengan sosial ekonomi kurang, sehingga status sosial ekonomi dan pendidikan serta umur ibu sebagai faktor perancu dapat disingkirkan.

Terapi baku diare akut pada bayi dan anak saat ini adalah rehidrasi, baik oral maupun parenteral serta pemberian dietetik dan ASI², sedangkan pemberian antibiotik sangat tidak dianjurkan. Pemberian antibiotik pada diare akut sangat tidak rasional karena tidak didasarkan pada indikasi dan tidak terbukti memberikan manfaat, kecuali hanya pada kasus disentri akibat *Shigella*.²⁶ Pemberian antibiotika dapat mempengaruhi lama diare karena dapat timbul *antibiotic associated diarrhea*. Antibiotika diberikan pada subyek yang mempunyai penyakit penyerta dan mempunyai indikasi untuk diberikan antibiotik. Selama perawatan subyek yang mendapatkan antibiotik sebanyak 25 orang (32,5%) yaitu 23 orang dengan antibiotik injeksi dan 2 orang dengan antibiotik peroral. Tidak didapatkan perbedaan bermakna pada pemberian antibiotik antar kelompok sehingga pemberian antibiotik pada beberapa subyek penelitian sebagai faktor perancu dapat disingkirkan.

Intoleransi makanan dapat mempengaruhi lama diare terutama pada kasus yang tidak mendapatkan penatalaksanaan dietetik sesuai penyebab intoleransi. Intoleransi laktosa ditentukan berdasarkan hasil pemeriksaan *clinitest* feses > +2, intoleransi lemak ditentukan berdasarkan hasil pemeriksaan sudan III > +2. Tidak didapatkan kejadian intoleransi laktosa maupun lemak dengan hasil *clinitest* +1 sebanyak 6 (7,8%) dan +2 sebanyak 3 (3,9%) serta hasil sudan III +1 sebanyak 24 (31,2%) sehingga kejadian intoleransi sebagai faktor perancu dapat disingkirkan.

Lama sakit sebelum dirawat di RS dihitung dari selisih saat BAB cair atau cair lembek pertama kali berdasarkan anamnesis dengan saat masuk UGD RS Dr. Kariadi Semarang. Rerata lama sakit sebelum dirawat di RS adalah $36,1 \pm 25,2$

jam dengan waktu terlama 103 jam dan terpendek 0 jam. Hasil uji Anova menunjukkan tidak didapatkan perbedaan bermakna antar kelompok pada beda rerata lama sakit sebelum dirawat di RS.

Durasi diare dihitung dari selisih saat masuk UGD RS Dr. Kariadi Semarang dengan saat BAB menjadi lembek berdasarkan pengamatan pengamat dan laporan orangtua. Rerata durasi diare adalah $72,5 \pm 25,5$ jam dengan waktu terpendek 21 jam dan terlama 137 jam. Diantara keempat kelompok didapatkan waktu terpendek pada kelompok seng dan probiotik, diikuti kelompok seng, probiotik dan terlama pada kelompok kontrol. Tidak didapatkan perbedaan bermakna pada durasi diare antar kelompok ($p=0,15$) dengan uji Anova.

Lama sakit dihitung dari selisih saat BAB cair atau cair lembek pertama kali berdasarkan anamnesis dengan saat BAB menjadi lembek berdasarkan pengamatan pengamat dan laporan orangtua. Rerata lama sakit adalah $108,7 \pm 26,1$ jam dengan waktu terpendek 44 jam dan terlama 178 jam. Diantara keempat kelompok didapatkan waktu terpendek pada kelompok seng dan probiotik, diikuti kelompok seng, probiotik dan terlama pada kelompok kontrol. Tidak didapatkan perbedaan bermakna dari uji Anova pada lama sakit antar kelompok ($p=0,29$).

Tidak didapatkan perbedaan bermakna secara statistik pada durasi diare maupun lama sakit diantara keempat kelompok dengan durasi terpendek pada kelompok seng-probiotik, diikuti kelompok seng, probiotik dan kontrol. Hasil penelitian ini sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya seperti di Indramayu yang membandingkan suplementasi seng, Fe, seng-Fe dan plasebo pada bayi usia 4-7 bulan, tidak mendapatkan perbedaan durasi diare akut, walaupun didapatkan

insiden diare terendah pada kelompok seng.¹⁴ Penelitian oleh Strand pada anak usia 6-35 bulan dengan jumlah subyek 1792 yang diberikan suplementasi seng, vitamin A, seng-vitamin A, dan plasebo juga tidak mendapatkan perbedaan durasi diare yang bermakna.¹¹ Penelitian Patel dari India pada anak usia 6-59 bulan dengan jumlah subyek 220 yang diberikan 40 mg seng dan 5 mg CuSO₄ dibandingkan plasebo juga tidak memberikan perbedaan bermakna pada durasi diare.¹³ Dari 12 penelitian suplementasi seng pada diare akut didapatkan 11 penelitian berhubungan dengan pengurangan durasi dan hanya pada 8 penelitian yang secara statistik bermakna.²⁷

Penelitian ini merupakan penelitian dengan berbasis rumah sakit sehingga berbeda derajat sakitnya dibandingkan dengan penelitian berbasis komunitas.¹³ Beberapa penelitian yang memberikan hasil penurunan durasi diare akut kebanyakan merupakan penelitian pada tingkat komunitas dengan jumlah subyek yang besar seperti penelitian oleh Sazawal di India dengan 937 subyek yang membandingkan pemberian seng glukonat dan multivitamin didapatkan penurunan resiko berlanjutnya diare 39%.⁵⁷ Penelitian di Indramayu pada anak 1-4 tahun dengan jumlah subyek 1185 yang membandingkan pemberian seng dan plasebo didapatkan penurunan resiko berlanjutnya diare sebesar 12%.¹⁰ Metaanalisis oleh IZiNCGT dengan jumlah subyek 2446 didapatkan penurunan durasi diare 10-24%.¹⁶

Penelitian tentang pemberian probiotik pada diare akut dengan berbasis rumah sakit juga memberikan hasil yang tidak bermakna, seperti yang dilakukan oleh Khanna di India²⁴ dan Costa-Ribeiro di Brazil²⁵. Penelitian yang

mendapatkan hasil perbedaan bermakna pada durasi diare akut didapatkan oleh Roberto dari Italia dengan jumlah subyek 571. Metaanalisis yang dilakukan oleh McFarland mendapatkan hasil penurunan durasi diare sebesar 0,56 hari²³ sedang metaanalisis oleh Niel mendapatkan hasil penurunan durasi sebesar 0,7 hari.²²

Penelitian tentang suplementasi seng dan probiotik yang pernah ada dilakukan di Israel pada anak 6-12 bulan dengan diare akut yang diberikan diet formula yang mengandung seng dan probiotik didapatkan penurunan durasi diare sebesar 0,62 hari pada kelompok perlakuan.²⁸ Pemberian seng dan probiotik dalam penelitian tersebut berupa fortifikasi dalam susu formula. Pengaruh bentuk pemberian fortifikasi mungkin lebih mudah diabsorpsi dibandingkan dengan pemberian dalam bentuk suplementasi. Interaksi tampaknya tidak terjadi bila dua elemen terdapat pada produk makanan atau dalam keadaan diet ligand sehingga lebih baik pemberian dua mikronutrien sebagai fortifikasi dibanding suplementasi.⁵⁸

Pengaruh status gizi terhadap penurunan durasi diare akut cair pada setiap kelompok tidak dapat dianalisa karena gizi kurang pada tiap kelompok hanya sedikit sehingga tidak dapat dibandingkan. Tidak didapatkan perbedaan bermakna pada durasi diare maupun lama sakit pada subyek dengan gizi baik. Penelitian di Palembang didapatkan hasil penurunan durasi diare lebih bermakna pada status gizi kurang atau pada keadaan defisiensi seng.⁴¹ Perlu penelitian lebih lanjut yang dapat menganalisa pengaruh status gizi dan status defisiensi seng pada masing-masing kelompok terhadap durasi diare akut cair.

Prediktor durasi diare yang paling penting adalah beratnya diare.¹³ Berbagai penelitian suplementasi seng yang secara klinis bermakna dalam mengurangi beratnya diare, ditunjukkan dengan berkurangnya volume feses dan frekuensi BAB. Terdapat 8 penelitian yang mengukur volume feses dan frekuensi BAB, didapatkan suplementasi seng berhubungan dengan pengurangan volume feses dan frekuensi BAB dan 5 penelitian diantaranya terdapat pengurangan yang bermakna secara statistik.²⁷ Keterbatasan pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran volume feses. Hal ini disebabkan kesulitan teknis dalam pengambilan dan pengukuran volume feses yang mengharuskan penderita dipasang *rektal tube* secara menetap sehingga akan menyebabkan ketidaknyamanan penderita.

Penelitian ini tidak mendapatkan perbedaan bermakna pada rerata kadar seng serum antar kelompok. Tidak didapatkan penderita dengan defisiensi seng pada saat awal perawatan bila dilihat dari hasil pemeriksaan kadar seng serum saat penderita datang. Tidak didapatkannya penderita dengan defisiensi seng dapat menjadi alasan tidak bermaknanya suplementasi yang diberikan dalam mengurangi durasi diare akut. Suplementasi seng akan bermakna dalam meningkatkan imunitas pada keadaan defisiensi. Banyaknya seng yang diabsorpsi berkisar antara 15-40%, tergantung pada status seng. Seseorang dengan status seng yang rendah mengabsorpsi seng lebih efisien dibandingkan dengan status seng yang tinggi.⁵⁹ Tubuh mempunyai kemampuan untuk memelihara homeostasis seng dalam keadaan diet dengan kandungan seng rendah maupun tinggi. Normalnya asupan seng manusia berkisar antara 107-231 mol/hari (6-15 mg/hari). Asupan seng kurang dari 10 mg/kg, atau lebih dari 15mg/kg akan

membuat mekanisme homeostatik tidak cukup untuk memelihara kandungan seng tubuh, sehingga terjadi *zinc loss* atau akumulasi seng dalam tubuh. Mekanisme homeostatis tersebut meliputi perubahan absorpsi dan ekspresi seng pada saluran cerna, pengaturan ekskresi lewat urin, serta redistribusi jaringan dan seluler. Bila asupan seng menurun, absorpsi seng meningkat dan ekskresi seng lewat feces menurun, dan sebaliknya. Asupan seng yang tinggi akan terakumulasi di tulang.⁶⁰ Pengaturan homeostatik dari absorpsi seng berhubungan dengan sintesis metallothionein, sebuah metalloprotein yang banyak mengandung sistein yang mengikat seng, tembaga, dan kation valensi dua lainnya. Ekspresi gen metallothionein dipengaruhi oleh diet seng dan akumulasi seng pada sel. Keadaan defisiensi seng membuat *metal-responsive transcription factor-1* (MTF-1) terikat pada inhibitor yang sensitif terhadap seng (MTI), yang mencegah ditranskripsinya gen metallothionein. Adanya asupan seng menyebabkan MTI terlepas dari MTF-1, sehingga MTF-1 dapat berinteraksi dengan *metal response element* (MRE) pada regio promotor gen metallothionein, sehingga transkripsi metallothionein meningkat.^{60,61}

Selama diare terjadi pengeluaran seng yang berlebihan. Ruel melaporkan bahwa anak dengan diare akut yang dirawat di rumah sakit terjadi kehilangan seng 6,08 mikrogram /kgBB/jam. Castillo-Duran melaporkan anak dengan diare yang dirawat di rumah sakit, pada hari pertama di rumah sakit terjadi kehilangan seng $159,4 \pm 59,9$ mikrogram/kgBB/hari, dibandingkan dengan kontrol hanya $47,4 \pm 6,4$ mikrogram/kgBB/hari. Disimpulkan semakin lama diare berlangsung, kadar seng dalam serum semakin rendah. Pemberian seng secara oral dapat menggantikan

pengeluaran seng selama diare.⁴⁸ Tidak dilakukan pengukuran kadar seng pasca pemberian suplementasi pada penelitian ini sehingga tidak diketahui efek suplementasi dalam mengurangi insiden defisiensi seng pasca diare. Penelitian yang dilakukan oleh Baqui di India mendapatkan hasil peningkatan konsentrasi seng serum setelah suplementasi sehingga dapat mempertahankan status seng dalam masa penyembuhan.⁶ Perlu dilakukan penelitian lanjutan efek protektif jangka panjang suplementasi ini terhadap insiden berulangnya diare yang dapat menggambarkan tingkat imunitas dan integritas sel usus.

Kelompok suplementasi mempunyai durasi diare dan lama sakit yang lebih pendek dibandingkan kelompok kontrol, dengan perbedaan bermakna pada durasi diare ($p=0.02$). Hal ini menunjukkan ada manfaat suplementasi secara klinis pada pengelolaan diare akut dalam memperpendek durasi diare.

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup, yang terbukti efektifitasnya pada manusia. Beberapa karakteristik umum yang mengklasifikasikan suatu mikroorganisme sebagai probiotik yaitu berasal dari manusia, non patogenik, tahan terhadap proses teknologi seperti viabilitas dan stabil saat dalam pengiriman dengan kendaraan, setelah kultur, manipulasi dan pengemasan sebelum dikonsumsi, tahan terhadap asam lambung, cairan empedu dan sekresi pankreas, menempel pada jaringan epitel target, dapat hidup dalam saluran cerna, menghasilkan substansi antimikroba, mampu memodulasi sistem imun.¹⁸ Suplementasi probiotik dan seng pada penelitian ini tidak terjadi interaksi berdasarkan sifat probiotik yang stabil dan pemberian kedua suplementasi dalam waktu berbeda.

Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, antara lain tidak dilakukan pengukuran volume feses sehingga tidak dapat dinilai perbedaan berat diare. Pengaruh status gizi terhadap penurunan durasi diare akut cair pada setiap kelompok tidak dapat dianalisis karena gizi kurang pada tiap kelompok hanya sedikit sehingga tidak dapat dibandingkan. Tidak dilakukan pengukuran kadar seng serum pasca pemberian suplementasi sehingga tidak diketahui efek suplementasi dalam mengurangi insiden defisiensi seng pasca diare.

BAB VII

SIMPULAN DAN SARAN

SIMPULAN

1. Durasi diare dan lama sakit terpendek pada kelompok seng dan probiotik, diikuti kelompok seng, probiotik dan terlama pada kontrol.
2. Perbedaan rerata durasi diare dan lama sakit dengan pemberian suplementasi seng dan probiotik secara bersamaan tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik dibandingkan pemberian suplementasi seng dan probiotik yang diberikan secara terpisah.
3. Kelompok suplementasi mempunyai durasi diare dan lama sakit yang lebih pendek dibandingkan kelompok kontrol, dengan perbedaan bermakna secara statistik pada durasi diare.

SARAN

1. Perlu penelitian lanjutan tentang :
 - a. pengaruh suplementasi seng dan probiotik terhadap beratnya diare
 - b. pengaruh suplementasi seng dan probiotik terhadap efek protektif pasca diare.
 - c. pengaruh status gizi dan status defisiensi seng terhadap durasi dan berat diare
2. Pemberian suplementasi seng dan probiotik pada pengelolaan diare akut cair anak untuk mempendek durasi dan mencegah berulangnya diare

DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Profil Kesehatan Indonesia 2008. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2009
2. Tim Pendidikan Medik Pemberantasan Diare (PMPD). Buku ajar diare. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 1999.p. 3-14
3. Kandun IN. Upaya pencegahan diare ditinjau dari aspek kesehatan masyarakat. Kumpulan makalah kongres nasional II badan koordinasi gastroenterology anak Indonesia (BKGAI). Bandung: BKGAI; 2003.p. 246-56
4. Hambidge M, Krebs N. Zinc, diarrhea and pneumoni. *J pediatr* 1999; 135: 661-4
5. King JC. Specific nutrient requirements. In: Gershwin ME, German JB, Keen CL ed. *Nutrition and immunology principles and practice*. New Jersey: Humana Press Inc; 2003.p. 65-73
6. Baqui HA, Black RE, Walker CLF, Arifeen S, Zaman K. Zinc supplementation and serum zinc during diarrhea. *Indian J Pediatr* 2006; 73 (6) : 493-497.
7. Roy SK, Behrens RH, Haider R, Akramuzzaman SM, Mahalanabis D, Wahed MA, et al. Impact of seng supplementation on intestinal permeability in Bangladeshi children with acute diarrhea and persisten diarrhea syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1992; 15:289-96.
8. Bhatnagar S, Bahl R, Sharma PK, Kumar GK, Saxena SK, Bhan MK. Zinc treatment with oral rehydration therapy reduces stool output and duration of diarrhea in hospitalized children; a randomized controlled trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38: 34-40.
9. Al-sonboli N, Gurgel RQ, Shenkin A, Hart CA, Cuevas LE. Zinc supplementation in Brazilian children with acute diarrhea. *Ann Trop Paediatr* 2003; 23(1):3-8

10. Hidayat A, Achadi A, Sunoto, Soedarmo SP. The effect of zinc supplementation in children under three years of age with acute diarrhea in Indonesia. *Med J Indones* 1998;7:237–40
11. Strand TA, Chandyo RK, Bahl R, Sharma PR, Adhikari RK, Bhandari N et al. Effectiveness and efficacy of zinc for the treatment of acute diarrhea in young children. *Pediatrics* 2002;109(5):898-904
12. Bahl R, Bhandari N, Saksena M, Strand T, Kumar GT, Bhan MK et al. Efficacy of zinc-fortified oral rehydration solution in 6 to 35 month-old children with acute diarrhea. *J Pediatr* 2002;141:677-82
13. Patel AB, Dhande LA, Rawat MS. Therapeutic evaluation of zinc and copper supplementation in acute diarrhea in children: double blind randomized trial. *Indian Pediatr* 2005;42:433-41
14. Purwaningsih E. A community-based randomized controlled trial of iron and zinc supplementation in Indonesian infant: effects on child morbidities. *M Med Indones* 2005;40:52–61
15. Aggarwal R, Sentz J, Miller MA. Role of zinc administration in prevention of childhood diarrhea and respiratory illnesses : a meta-analysis. *Pediatric* 2007; 1120-30
16. The Zinc Investigators' Collaborative Group. Therapeutic effects of oral zinc in acute and persistent diarrhea in children in developing countries: pooled analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2000;72:1516–22
17. Olivier F. Evidence for the safety and efficacy of zinc supplementation in the management of diarrhea. *Sari pediatri* 2008 : 14–20
18. Firmansyah A. Terapi probiotik dan prebiotik pada penyakit saluran cerna anak. *Sari pediatri* 2001 : 210-14
19. Sudarmo SM. Peranan probiotik dan prebiotik dalam upaya pencegahan dan pengobatan diare pada anak. Dalam Kumpulan makalah kongres nasional II badan koordinasi gastroenterology anak Indonesia (BKGAI). Bandung: BKGAI; 2003.p 115-27

20. Putra IGNS, Suraatmaja S, Aryasa IKN. Effect of probiotics supplementation on acute diarrhea in infants: a randomized double blind clinical trial. *Paediatr Indones* 2007: 172-78
21. Alasiry E, Abbas N, Daud D. Khasiat klinik pemberian probiotik pada diare akut nonspesifik bayi dan anak. *Sari pediatri*. 2007 :36-41
22. Niel CWV, Feudtner C, Garrison MM, Christakis DA. Lactobacillus therapy for acute infectious diarrhea in children : a meta-analysis. *Pediatrics* 2002 : 678-84
23. McFarland LV, Elmer GW, McFarland M. Meta-analysis of probiotics for the prevention and treatment of acute pediatric diarrhea. *Int J Probiotics Prebiotics* 2006 : 63-76
24. Khanna V, Alam S, Malik A, Malik A. Efficacy of tyndalized lactobacillus acidophilus in acute diarrhea *Indian J Pediatr* 2005 : 935-939
25. Ribeiro C, Hugo, Cristina T, Mattos, Angela P, Valois, et al. Limitations of probiotic therapy in acute, sever dehydrating diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003 : 112-115
26. Prahasto D. Penggunaan antidiare ditinjau dari aspek terapi rasional. *Kumpulan Makalah Kongres Nasional II Badan Koordinasi Gastroenterologi Anak Indonesia*. Bandung: BKGAI; 2003.p. 78-90
27. World Health Organization, UNICEF, USAID, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health. Implementing the new recommendations on the clinical management of diarrhoea. *Guidelines for policy makers and programme managers*. WHO; 2006
28. Shamir R, Makhoul IR, Etzioni A, Shehadeh N. Evaluation of a diet containing probiotics and zinc the treatment of mild diarrheal illness in children younger than one year of age. *J Am Coll Nutr* 2005 : 370-5
29. Santosa B. Tatalaksana diare akut cair dalam Naskah lengkap Konggres nasional III Badan Koordinasi Gastroenterologi Anak Indonesia. *Penanganan optimal masalah saluran cerna dan hati pada anak*. Surabaya: BKGAI; 2007.p. 35-45

30. Pickering LK, Snyder JD. Gastroenteritis. In: Nelson WE, Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM, editors. Textbook of pediatrics. 17th ed. Philadelphia: WB Saunders Company. 2003 May. p.1272-76.
31. Sudigbia I. Pengaruh suplementasi tempe terhadap kecepatan tumbuh pada penderita diare anak umur 6-24 bulan. Disertasi. Semarang: Universitas Diponegoro, 1990:7-37.
32. Suheryati, H. Azhali M.S., Yasmar Alfa, Nono Sumarna. Prevalensi infeksi rotavirus penderita diare akut pada anak usia 1-60 bulan di Puskesmas kota Bandung. Kumpulan makalah kongres nasional II badan koordinasi gastroenterology anak Indonesia (BKGAI). Bandung: BKGAI; 2003.p. 361.
33. Seidman E. Immune homeostasis and the gut. In: Roy CC, Silverman A, Alagille D ed. Pediatric clinical gastroenterology. 4th ed. Missouri Mosby; 1995. p 388-99
34. Goulet O, Seidman EG. Gastrointestinal manifestation of immunodeficiency. Primary immunodeficiency disease. In: Walker WA, Goulet O, Kleinman RE, Sherman PM, Shneider BL, Sanderson IR ed. Pediatric gastrointestinal disease pathophysiology diagnosis management vol 1 4th ed. Ontario: Allan Walker; 2004.p. 707-41
35. Srivastava M. Gastrointestinal mucosal immunology and mechanism of inflammation. In: Wyllie R. Hyams JS. Pediatric gastrointestinal and liver disease pathophysiology diagnosis management 3rd ed. Philadelphia. Saunders Elsevier.2006.p. 85-107
36. Prawirohartono EP. Terapi nutrisi bayi dan anak dengan diare. Kumpulan makalah kongres nasional II badan koordinasi gastroenterologi anak Indonesia (BKGAI). Bandung: BKGAI; 2003.p. 291-309.
37. Brewster DR. Intestinal permeability in Protein-energy Malnutrition. In: zulfiqar Ahmed Bhutta, editor. Contemporary Issues in Childhood Diarrhoea and Malnutrition. Pakistan: Oxford University Press, 2000: 126-79
38. Rosalina I. Efikasi pemberian zinc pada diare dalam Naskah lengkap Kongres nasional III Badan Koordinasi Gastroenterologi Anak Indonesia.

- Penanganan optimal masalah saluran cerna dan hati pada anak. Surabaya: BKGAI; 2007.p. 159-67
39. Dijkhuizen MA, Wieringa FT. Vitamin A, iron and zinc deficiency in Indonesia. Micronutrient interaction and effects of supplementation. Thesis. Wageningen: Wageningen University, 2001.
 40. Grider A. Zinc, copper, and manganese dalam Stipanuk MH. Biochemical, physiological, & molecular aspects of human nutrition 2nd ed. Missouri. Elsevier.2006: p1043-65
 41. Bakri A. Peranan mikronutrien seng dalam pencegahan dan penanggulangan diare dalam Kumpulan makalah kongres nasional II badan koordinasi gastroenterology anak Indonesia (BKGAI). Bandung: BKGAI; 2003.p. 132–39.
 42. Almtsier S. Prinsip dasar ilmu gizi. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama; 2004.p.257-61
 43. King JC. Zinc. In Balado D, Schmidt J, Williams T, Weir JD. Modern nutrition in health and disease 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1999.p.223-39
 44. Rink L, Kirchner H. Zinc-altered immune function and cytokine production. J Nutr 2000; 130 : 1407S-1411S
 45. Shankar AH, Prasad AS. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection in Am J Clin Nutr 1998 : 447S-457S.
 46. Scott ME, Koski KG. Zinc deficiency impairs immune responses against parasitic nematode infections at intestinal and systemic sites. J Nutr 2000; 130:1412S-20S
 47. Wapnir RA. Zinc deficiency, malnutrition and the gastrointestinal tract. J Nutr 2000;130a: 1388S-92S
 48. Artana WD, Suraatmaja S, Aryasa KN, Suandi IKG. Peran suplementasi mineral mikro seng terhadap kesembuhan diare. Sari pediatri 2005:15-18
 49. Markwick KJR, Gill HS. Probiotics and Immunomodulation in Hughes DA, Darlington LG, Bendich A ed. Diet and human immune function. New Jersey. 2004 : 327-339

50. Hegar B. Mikroflora saluran cerna pada kesehatan anak. Dextra medica. 2007
51. Casani RB, Cirillo P, Terrin G, Cesarano L, Spagnuolo MI, De Vincenzo A dkk. Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five different preparations. BMJ 2007
52. Johnston BC, Supina AL, Vohra S. Probiotics for pediatric antibiotic-associated diarrhea: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. CMAJ. 2006;175:377–383
53. Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto SH. Perkiraan besar sampel dalam Sastroasmoro S, Ismael S. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Jakarta. 2002 :259-86
54. Alsonboli N, Gurgel RQ, Shenkin A, Hart CA, Cuevas LE. Zinc supplementation in Brazilian children with acute diarrhea. Ann Trop Paediatr 2003 : 3-8
55. Harun SR, Putra ST, Wiharta AS, Chair I. Uji klinis. Dalam Sastroasmoro S, Ismael S. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Jakarta. 2002 :109-25
56. Kleinman RE. Persistent Diarrheal Disease In: Kleinman RE. Pediatric Nutrition Handbook 4th ed . American Academy of Pediatrics. 1998: 337-49
57. Sazawal S, Black RE, Bahn MK, Sinha A, Jalia S. Zinc supplementation in young children with acute diarrhea in India. N Engl J Med 1995;333:839–44
58. Sazawal S, Dhingra U, Hiremath G, Kumar J, Dhingra P, Sarkar A et al. Effects of fortified milk on morbidity in young children in north India: community based, randomized, double masked placebo controlled trial. BMJ 2006:1-5
59. Gropper SS, Smith JL, Groff JL. Microminerals. In : Advanced nutrition and human metabolism 4th ed. USA : Thomson Learning; 2005 : 417-55.
60. King JC, Shames DM, Woodhouse LR. Zinc homeostasis in human. J Nutr 2000; 130 : 1360S-66S
61. Brody T. Nutritional biochemistry. California: Academic Press; 1994 : 581-90

-
1. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Profil Kesehatan Indonesia 2008. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2009
 2. Tim Pendidikan Medik Pemberantasan Diare (PMPD). Buku ajar diare. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 1999.p. 3-14
 3. Kandun IN. Upaya pencegahan diare ditinjau dari aspek kesehatan masyarakat. Kumpulan makalah kongres nasional II badan koordinasi gastroenterology anak Indonesia (BKGAI). Bandung: BKGAI; 2003.p. 246-56
 4. Hambidge M, Krebs N. Zinc, diarrhea and pneumoni. J pediatr 1999; 135: 661-4
 5. King JC. Specific nutrient requirements. In: Gershwin ME, German JB, Keen CL ed. Nutrition and immunology principles and practice. New Jersey: Humana Press Inc; 2003.p. 65-73
 6. Baqui HA, Black RE, Walker CLF, Arifeen S, Zaman K. Zinc supplementation and serum zinc during diarrhea. Indian J Pediatr 2006; 73 (6) : 493-497.
 7. Roy SK, Behrens RH, Haider R, Akramuzzaman SM, Mahalanabis D, Wahed MA, et al. Impact of seng supplementation on intestinal permeability in Bangladeshi children with acute diarrhea and persisten diarrhea syndrome. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1992; 15:289-96.
 8. Bhatnagar S, Bahl R, Sharma PK, Kumar GK, Saxena SK, Bhan MK. Zinc treatment with oral rehydration therapy reduces stool output and duration of diarrhea in hospitalized children; a randomized controlled trial. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2004; 38: 34-40.
 9. Al-sonboli N, Gurgel RQ, Shenkin A, Hart CA, Cuevas LE. Zinc supplementation in Brazilian children with acute diarrhea. Ann Trop Paediatr 2003; 23(1):3-8
 10. Hidayat A, Achadi A, Sunoto, Soedarmo SP. The effect of zinc supplementation in children under three years of age with acute diarrhea in Indonesia. Med J Indones 1998;7:237-40

-
11. Strand TA, Chandyo RK, Bahl R, Sharma PR, Adhikari RK, Bhandari N et al. Effectiveness and efficacy of zinc for the treatment of acute diarrhea in young children. *Pediatrics* 2002;109(5):898-904
 12. Bahl R, Bhandari N, Saksena M, Strand T, Kumar GT, Bhan MK et al. Efficacy of zinc-fortified oral rehydration solution in 6 to 35 month-old children with acute diarrhea. *J Pediatr* 2002;141:677-82
 13. Patel AB, Dhande LA, Rawat MS. Therapeutic evaluation of zinc and copper supplementation in acute diarrhea in children: double blind randomized trial. *Indian Pediatr* 2005;42:433-41
 14. Purwaningsih E. A community-based randomized controlled trial of iron and zinc supplementation in Indonesian infant: effects on child morbidities. *M Med Indones* 2005;40:52-61
 15. Aggarwal R, Sentz J, Miller MA. Role of zinc administration in prevention of childhood diarrhea and respiratory illnesses : a meta-analysis. *Pediatric* 2007; 1120-30
 16. The Zinc Investigators' Collaborative Group. Therapeutic effects of oral zinc in acute and persistent diarrhea in children in developing countries: pooled analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2000;72:1516-22
 17. Olivier F. Evidence for the safety and efficacy of zinc supplementation in the management of diarrhea. *Sari pediatri* 2008 : 14-20
 18. Firmansyah A. Terapi probiotik dan prebiotik pada penyakit saluran cerna anak. *Sari pediatri* 2001 : 210-14
 19. Sudarmo SM. Peranan probiotik dan prebiotik dalam upaya pencegahan dan pengobatan diare pada anak. Dalam Kumpulan makalah kongres nasional II badan koordinasi gastroenterology anak Indonesia (BKGAI). Bandung: BKGAI; 2003.p 115-27
 20. Putra IGNS, Suraatmaja S, Aryasa IKN. Effect of probiotics supplementation on acute diarrhea in infants: a randomized double blind clinical trial. *Paediatr Indones* 2007: 172-78

-
21. Alasiry E, Abbas N, Daud D. Khasiat klinik pemberian probiotik pada diare akut nonspesifik bayi dan anak. *Sari pediatri*. 2007 :36-41
 22. Niel CWV, Feudtner C, Garrison MM, Christakis DA. Lactobacillus therapy for acute infectious diarrhea in children : a meta-analysis. *Pediatrics* 2002 : 678-84
 23. McFarland LV, Elmer GW, McFarland M. Meta-analysis of probiotics for the prevention and treatment of acute pediatric diarrhea. *Int J Probiotics Prebiotics* 2006 : 63-76
 24. Khanna V, Alam S, Malik A, Malik A. Efficacy of tyndalized lactobacillus acidophilus in acute diarrhea *Indian J Pediatr* 2005 : 935-939
 25. Ribeiro C, Hugo, Cristina T, Mattos, Angela P, Valois, et al. Limitations of probiotic therapy in acute, sever dehydrating diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003 : 112-115
 26. Prahasto D. Penggunaan antidiare ditinjau dari aspek terapi rasional. *Kumpulan Makalah Kongres Nasional II Badan Koordinasi Gastroenterologi Anak Indonesia*. Bandung: BKGAI; 2003.p. 78-90
 27. World Health Organization, UNICEF, USAID, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health. Implementing the new recommendations on the clinical management of diarrhoea. Guidelines for policy makers and programme managers. WHO; 2006
 28. Shamir R, Makhoul IR, Etzioni A, Shehadeh N. Evaluation of a diet containing probiotics and zinc the treatment of mild diarrheal illness in children younger than one year of age. *J Am Coll Nutr* 2005 : 370-5
 29. Santosa B. Tatalaksana diare akut cair dalam Naskah lengkap Konggres nasional III Badan Koordinasi Gastroenterologi Anak Indonesia. Penanganan optimal masalah saluran cerna dan hati pada anak. Surabaya: BKGAI; 2007.p. 35-45
 30. Pickering LK, Snyder JD. Gastroenteritis. In: Nelson WE, Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM, editors. *Textbook of pediatrics*. 17th ed. Philadelphia: WB Saunders Company. 2003 May. p.1272-76.

-
31. Sudigbia I. Pengaruh suplementasi tempe terhadap kecepatan tumbuh pada penderita diare anak umur 6-24 bulan. Disertasi. Semarang: Universitas Diponegoro, 1990:7-37.
 32. Suheryati, H. Azhali M.S., Yasmar Alfa, Nono Sumarna. Prevalensi infeksi rotavirus penderita diare akut pada anak usia 1-60 bulan di Puskesmas kota Bandung. Kumpulan makalah kongres nasional II badan koordinasi gastroenterology anak Indonesia (BKGAI). Bandung: BKGAI; 2003.p. 361.
 33. Seidman E. Immune homeostasis and the gut. In: Roy CC, Silverman A, Alagille D ed. Pediatric clinical gastroenterology. 4th ed. Missouri Mosby; 1995. p 388–99
 34. Goulet O, Seidman EG. Gastrointestinal manifestation of immunodeficiency. Primary immunodeficiency disease. In: Walker WA, Goulet O, Kleinman RE, Sherman PM, Shneider BL, Sanderson IR ed. Pediatric gastrointestinal disease pathophysiology diagnosis management vol 1 4th ed. Ontario: Allan Walker; 2004.p. 707-41
 35. Srivastava M. Gastrointestinal mucosal immunology and mechanism of inflammation. In: Wyllie R. Hyams JS. Pediatric gastrointestinal and liver disease pathophysiology diagnosis management 3rd ed. Philadelphia. Saunders Elsevier.2006.p. 85-107
 36. Prawirohartono EP. Terapi nutrisi bayi dan anak dengan diare. Kumpulan makalah kongres nasional II badan koordinasi gastroenterologi anak Indonesia (BKGAI). Bandung: BKGAI; 2003.p. 291-309.
 37. Brewster DR. Intestinal permeability in Protein-energy Malnutrition. In: zulfiqar Ahmed Bhutta, editor. Contemporary Issues in Childhood Diarrhoea and Malnutrition. Pakistan: Oxford University Press, 2000: 126-79
 38. Rosalina I. Efikasi pemberian zinc pada diare dalam Naskah lengkap Konggres nasional III Badan Koordinasi Gastroenterologi Anak Indonesia. Penanganan optimal masalah saluran cerna dan hati pada anak. Surabaya: BKGAI; 2007.p. 159-67

-
39. Dijkhuizen MA, Wieringa FT. Vitamin A, iron and zinc deficiency in Indonesia. Micronutrient interaction and effects of supplementation. Thesis. Wageningen: Wageningen University, 2001.
 40. Grider A. Zinc, copper, and manganese dalam Stipanuk MH. Biochemical, physiological, & molecular aspects of human nutrition 2nd ed. Missouri. Elsevier.2006: p1043-65
 41. Bakri A. Peranan mikronutrien seng dalam pencegahan dan penanggulangan diare dalam Kumpulan makalah kongres nasional II badan koordinasi gastroenterology anak Indonesia (BKGAI). Bandung: BKGAI; 2003.p. 132–39.
 42. Almtsier S. Prinsip dasar ilmu gizi. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama; 2004.p.257-61
 43. King JC. Zinc. In Balado D, Schmidt J, Williams T, Weir JD. Modern nutrition in health and disease 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1999.p.223-39
 44. Rink L, Kirchner H. Zinc-altered immune function and cytokine production. J Nutr 2000; 130 : 1407S-1411S
 45. Shankar AH, Prasad AS. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection in Am J Clin Nutr 1998 : 447S-457S.
 46. Scott ME, Koski KG. Zinc deficiency impairs immune responses against parasitic nematode infections at intestinal and systemic sites. J Nutr 2000; 130:1412S-20S
 47. Wapnir RA. Zinc deficiency, malnutrition and the gastrointestinal tract. J Nutr 2000;130a: 1388S-92S
 48. Artana WD, Suraatmaja S, Aryasa KN, Suandi IKG. Peran suplementasi mineral mikro seng terhadap kesembuhan diare. Sari pediatri 2005:15-18 (7-1-3)
 49. Markwick KJR, Gill HS. Probiotics and Immunomodulation in Hughes DA, Darlington LG, Bendich A ed. Diet and human immune function. New Jersey. 2004 : 327-339

-
50. Hegar B. Mikroflora saluran cerna pada kesehatan anak. *Dexa medica*. 2007
 51. Casani RB, Cirillo P, Terrin G, Cesarano L, Spagnuolo MI, De Vincenzo A dkk. Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five different preparations. *BMJ* 2007
 52. Johnston BC, Supina AL, Vohra S. Probiotics for pediatric antibiotic-associated diarrhea: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *CMAJ*. 2006;175:377–383
 53. Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto SH. Perkiraan besar sampel dalam Sastroasmoro S, Ismael S. *Dasar-dasar metodologi penelitian klinis*. Jakarta. 2002 :259-86
 54. Alsonboli N, Gurgel RQ, Shenkin A, Hart CA, Cuevas LE. Zinc supplementation in Brazilian children with acute diarrhea. *Ann Trop Paediatr* 2003 : 3-8
 - 55 . Harun SR, Putra ST, Wiharta AS, Chair I. Uji klinis. Dalam Sastroasmoro S, Ismael S. *Dasar-dasar metodologi penelitian klinis*. Jakarta. 2002 :109-25
 56. Kleinman RE. Persistent Diarrheal Disease In: Kleinman RE. *Pediatric Nutrition Handbook 4th ed* . American Academy of Pediatrics. 1998: 337-49
 57. Sazawal S, Black RE, Bahn MK, Sinha A, Jalia S. Zinc supplementation in young children with acute diarrhea in India. *N Engl J Med* 1995;333:839–44
 58. Sazawal S, Dhingra U, Hiremath G, Kumar J, Dhingra P, Sarkar A et al. Effects of fortified milk on morbidity in young children in north India: community based, randomized, double masked placebo controlled trial. *BMJ* 2006:1-5
 59. Gropper SS, Smith JL, Groff JL. Microminerals. In : *Advanced nutrition and human metabolism 4th ed*. USA : Thomson Learning; 2005 : 417-55.
 60. King JC, Shames DM, Woodhouse LR. Zinc homeostasis in human. *J Nutr* 2000; 130 : 1360S-66S
 61. Brody T. *Nutritional biochemistry*. California: Academic Press; 1994 : 581-90