

Manfaat Pemberian Probiotik pada Usia Lanjut terhadap Hitung Bakteri Asam Laktat, *Coliform*, Aerob, Anaerob serta Enzim β -glukosidase dan β -glukuronidase

Ernawaty Tamba

Staf Pengajar Bagian Ilmu Kesehatan Masyarakat Fakultas kedokteran Ukrida
Alamat korespondensi: ernawaty_tamba@yahoo.com

Abstrak

Probiotik adalah suatu mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi dalam jumlah adekuat, dapat mengubah keadaan bakteri dan aktivitas enzim di saluran cerna, dengan meningkatkan bakteri baik, menurunkan aktivitas enzim yang berperan pada perubahan suatu prokarsinogen menjadi karsinogen, sehingga diharapkan pemberian probiotik akan menurunkan risiko terjadinya kanker kolorektal dalam jangka panjang. Penelitian dilakukan di Panti Werda Hana, Jakarta Selatan. Penelitian ini merupakan suatu penelitian eksperimental dengan desain *pre-post test* pada satu kelompok mendapat susu yang ditambahkan probiotik yang mengandung *Leuconostoc mesenteroides*. Sampel sebanyak 34 orang diambil dari populasi yang memenuhi kriteria penerimaan. Periode perlakuan dilakukan selama 6 minggu yang terbagi atas dua tahap yaitu tahap pemberian susu selama tiga minggu dan tahap pemberian susu yang ditambahkan probiotik selama 3 minggu. Setelah pemberian susu dan setelah pemberian probiotik dilakukan pemeriksaan feses untuk pemeriksaan hitung bakteri asam laktat, *coliform*, aerob, anaerob, serta enzim β -glukosidase dan β -glukuronidase. Hasil penelitian dengan uji *t test* berpasangan didapatkan setelah pemberian susu probiotik, terjadi kenaikan hitung bakteri asam laktat, penurunan total bakteri aerob dan anaerob, dan penurunan enzim β -glukosidase. Tidak terjadi penurunan hitung bakteri *coliform* dan aktivitas enzim β -glukuronidase. Penelitian ini menunjukkan potensi probiotik dalam mencegah kanker kolorektal, oleh karena itu disarankan pemberian probiotik pada lansia, karena kelompok ini mempunyai risiko yang lebih tinggi untuk terjadinya kanker kolorektal.

Kata kunci: probiotik, bakteri asam laktat, *coliform*, bakteri anaerob, bakteri aerob, β -glukosidase, β -glukuronidase, lanjut usia

Abstract

Probiotics are living microorganisms which, when they get consumed in sufficient amount, it will turn the state condition of bacteria and the enzyme's activities in gastrointestinal duct, by increase the good bacteria, reduce the enzyme's activities that involves in the conversion from procarcinogens into carcinogens, so hopefully probiotics will reduce the risk of colorectal cancer in the long term. Further research has been conducted in Hanna Nursing Home, South Jakarta. This study is an experimental study with *pre-post test* design in which one group received milk containing added probiotic *Leuconostoc mesenteroides*. The sample were taken from the total population of 34 people who meet the inclusion criteria. The treatment period has been done in 6 weeks and divided in two phases, which are the 3-weeks milk feeding phase and the 3-weeks milk feeding phase with additional probiotics. After the two phases had been done, the feces checking will be conducted to count the amount of lactic acid bacteria, *coliform*, erobic bacteria, anaerobic bacteria, including the enzyme β - glucosidase and β - glucuronidase. After the paired *t-test* had been conducted, together with the appropriation of the

probiotic milk, the amount of lactic acid bacteria rose up, the total amount of aerobic and anaerobic bacteria also decrease, along with the degradation of enzyme β -glucosidase. The research shows us the potential of probiotic in preventing colorectal cancer, therefore it is advisable to give probiotics to the elder, because they have higher risk to suffer colorectal cancer.

Key words: *probiotic, lactic acid bacteria, coliforms, anaerob bacteria, aerob bacteria, β -glucosidase dan β -glucuronidase, elderly*

Pendahuluan

Usia lanjut merupakan salah satu faktor risiko terjadinya kanker kolorektal. Pada kelompok lanjut usia terjadi perubahan fungsi-fungsi fisiologis tubuh yang tidak dapat dicegah, yang akan mempengaruhi status kesehatan fisik dan psikisnya, yang kemudian akan mempengaruhi pola konsumsi makanan. Perubahan pada sistem tubuh dan konsumsi makanan akan mempengaruhi mikroflora usus, dan perubahan ini dapat dilihat dengan hitung bakteri dan aktivitas enzim bakteri. Kedua parameter ini dapat memberikan gambaran suatu proses karsinogenesis di kolon, dan faktor genetik merupakan faktor yang ikut berperan sampai timbulnya gejala kanker.

Probiotik adalah suatu mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi dalam jumlah adekuat, dapat memberi manfaat bagi kesehatan manusia dengan memperbaiki keseimbangan mikroorganisme di usus.¹ Probiotik dapat mengubah keadaan bakteri dan aktivitas enzim di saluran cerna, dengan meningkatkan bakteri baik, menurunkan aktivitas enzim yang berperan pada perubahan suatu prokarsinogen menjadi karsinogen, sehingga diharapkan pemberian probiotik akan menurunkan risiko terjadinya kanker kolorektal dalam jangka panjang.

Probiotik

Istilah probiotik yang berarti "hidup", berasal dari bahasa Yunani. Istilah ini pertama kali digunakan oleh Lily dan Stillwell pada tahun 1965 untuk menggambarkan senyawa yang dihasilkan suatu mikroorganisme, yang akan menstimulasi pertumbuhan yang lainnya.

Dari berbagai penelitian yang dilakukan pada hewan dan manusia didapatkan manfaat probiotik bagi kesehatan. Beberapa di antaranya adalah: menurunkan infeksi *Helicobacter pylori*,

mengurangi gejala alergi, memperbaiki konstipasi, mencegah kanker, efek hipokolesterolemik, memperbaiki intoleransi laktosa, memperbaiki *irritable bowel syndrome*, menstimulasi imunitas humoral dan seluler.²

Probiotik sebagai Antimutagenik dalam Mengurangi Risiko Kanker Kolorektal

Probiotik dilaporkan dapat mengurangi mutagenitas suatu bahan kimiawi yang bersifat mutagen. Penelitian pada anjing dengan pemberian susu yang difermentasi dengan *Laktobasilus delbrueckii* subs. *bulgaricus* yang sebelumnya telah diberikan suatu mutagen 4 *nitroquinolon N oxide* (4NQO), ternyata memperlihatkan aktivitas antimutagenik pada feses anjing tersebut.³

Morotomi dan Mutai (1986) melaporkan bahwa semua bakteri gram positif dan beberapa bakteri gram negatif yang diisolasi dari feses manusia secara efektif mengikat 3 *amino 1,4 dimetil 5H pyrindo indole* dan 3 *amino 1 metil 5 H pyrindo indole* yang merupakan suatu mutagen kuat yang terdapat pada daging atau ikan yang diasapkan. Penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri di usus mempunyai efek perlindungan terhadap mutagen yang berasal dari makanan yang dikonsumsi.

Mekanisme probiotik dalam mencegah kanker kolorektal melalui proses: 1) mengubah mikroekologi intestinal (efek mikroflora); 2) mengubah aktivitas metabolik intestinal; 3) normalisasi permeabilitas intestinal; 4) meningkatkan imunitas intestinal, dan 5) memperkuat mekanisme barier intestinal.⁴

Ada beberapa studi epidemiologis yang mendapatkan hubungan antara konsumsi susu yang mengandung probiotik melalui fermentasi dengan kanker kolon. Penelitian Shanani dan Ayebo tahun 1980 mendapatkan hubungan antar konsumsi *yoghurt* dan susu yang difermentasi

dengan *Lactobacillus* atau *Bifidobacterium* dengan rendahnya insiden kanker kolon. Suatu studi epidemiologi di Finlandia dengan konsumsi lemak yang tinggi, insiden kanker kolon di negara ini lebih rendah dari negara lain, karena penduduknya mengkonsumsi susu, *yoghurt* dan produk susu lainnya yang cukup tinggi.⁵

Efek antimutagenik probiotik, yaitu (Fernandes dan Shahani, 1990) yaitu; 1) mencegah inisiasi kanker, dan 2) supresi kanker insitu.

Status Gizi pada Lanjut Usia

Salah satu faktor yang mempengaruhi risiko terjadinya kanker kolorektal adalah faktor usia. Kasus terbanyak pada usia 60-70 tahun, dan jarang terjadi sebelum usia 50 tahun, biasanya dihubungkan dengan adanya riwayat pada keluarga. Pada lanjut usia jika terdapat tanda klinis yang mendukung, kemungkinan menderita kanker kolorektal dipertimbangkan.

Proses menua adalah suatu proses menghilangnya secara perlahan-lahan kemampuan jaringan untuk memperbaiki diri/mengganti dan mempertahankan fungsi normalnya sehingga tidak dapat bertahan terhadap infeksi dan memperbaiki kerusakan yang diderita.⁶

Pada lansia (di atas 60 tahun) akan terjadi berbagai macam kemunduran organ tubuh, sehingga metabolisme di dalam tubuh menurun. Hal tersebut menyebabkan pemenuhan kebutuhan sebagian zat gizi pada sebagian besar lansia tidak terpenuhi secara adekuat.

Status gizi lansia dapat dinilai dengan cara yang baku bagi berbagai tahapan umur, yakni penilaian secara langsung dan tak langsung. Penilaian secara langsung dilakukan melalui pemeriksaan klinik, antropometrik, biokimia, dan biofisik. Pemeriksaan secara tidak langsung dilakukan dengan analisis asupan, untuk mengetahui kecukupan zat gizi yang dikonsumsi.⁷ Berdasarkan literatur, probiotik akan meningkatkan hitung bakteri yang baik dan menurunkan aktivitas enzim bakteri, yang pada akhirnya akan menurunkan risiko kanker kolorektal.

Penelitian ini akan melihat pengaruh pemberian susu yang ditambah dengan probiotik, yang akan meningkatkan hitung bakteri yang baik di usus dan menurunkan aktivitas enzim bakteri. Asupan makanan merupakan variabel

yang juga dapat mempengaruhi hitung bakteri dan aktivitas enzim, tetapi tidak dianalisis hubungannya dalam penelitian ini, oleh karena semua subjek mendapatkan jenis makanan yang sama selama penelitian.

Hipotesis Penelitian

Pemberian susu yang ditambah dengan probiotik (*leuconostoc mesenteroides*) 1×10^9 cfu/hari selama tiga minggu pada lanjut usia akan meningkatkan hitung bakteri yang baik, dan menurunkan aktivitas enzim bakteri.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan suatu penelitian eksperimental dengan desain *pre-post test* pada satu kelompok mendapat susu yang ditambahkan probiotik. Penelitian ini merupakan bagian dari suatu penelitian yang bertujuan mengukur pengaruh probiotik dalam meningkatkan daya tahan tubuh, pengaruh terhadap status gizi dan penurunan aktivitas mutagenik pada lansia di Indonesia. Data diperoleh melalui wawancara, pengisian kuesioner, pengukuran antropometri, pencacatan asupan makanan, dan pemeriksaan feses di laboratorium

Penelitian dilakukan di Panti Werda Hana, Jakarta Selatan, Pengumpulan data dilakukan selama enam minggu yang dimulai pada bulan Agustus 2004

Sampel diambil dari populasi yang memenuhi kriteria penerimaan, penolakan, dan secara tertulis tidak berkeberatan ikut serta dalam penelitian dan menandatangani formulir persetujuan. Sesuai dengan tujuan penelitian dan proses pengambilan data dibuat pedoman dalam pengambilan subjek penelitian yang disebut sebagai kriteria penerimaan (inklusi).

Kriteria penerimaan

1. Usia lanjut, perempuan atau laki-laki di atas 60 tahun;
2. mempunyai kemampuan untuk diwawancarai;
3. Pada pemeriksaan fisik tampak sehat, baik fisik maupun psikis;
4. tinggal di Panti Werda > 1 tahun;
5. bersedia menandatangani surat perjanjian dan ikut menjadi subjek penelitian.



Kriteria penerimaan tersebut adalah dengan latar belakang bahwa penelitian ini dilakukan pada kelompok lanjut usia dengan syarat usia > 60 tahun. Sebagian data dikumpulkan melalui kuesioner, dan penilaian asupan makanan yang dilakukan dengan metode *recall 24 hours* sehingga diperlukan kemampuan subjek untuk diwawancarai. Penelitian ini berlangsung selama enam minggu, sehingga kesehatan subjek adalah penting, agar kemungkinan *drop out* dapat dihindarkan. Penghuni panti ada yang terkadang kembali ke rumah keluarganya, sehingga selama penelitian harus dipastikan subjek tidak meninggalkan panti. Dan dari hasil wawancara penghuni panti rata-rata tinggal di panti sudah di atas 1 tahun.

Kriteria penolakan

Kriteria penolakan adalah yang tidak memenuhi kriteria penerimaan, dan yang tidak bersedia menjadi subjek penelitian.

Instrumen Pengumpul Data

Formulir

Formulir A: lembar persetujuan sebagai subjek penelitian (*informed consent*)

Formulir B: berisi informasi usia, jenis kelamin, riwayat penyakit, dan aktivitas fisik subjek

Formulir C: pemeriksaan antropometri dan laboratorium

Formulir D: formulir (*food recall*)

Periode Perlakuan

Periode perlakuan dilakukan selama enam minggu yang terbagi atas dua tahap yaitu tahap pemberian susu selama 3 minggu dan tahap pemberian susu yang ditambahkan probiotik selama tiga minggu. Susu yang diberikan diproduksi oleh sebuah perusahaan nasional yaitu PT. Ultra Jaya Milk yang berlokasi di Bandung, Jawa Barat, dan disimpan dalam kemasan kotak, tidak diberi label, dan setiap kotak mengandung 125 cc susu. Subjek pada penelitian ini adalah kelompok lansia, sehingga susu yang diberikan adalah susu rendah lemak, untuk mencegah terjadinya hiperlipidemia (hiperkolesterolemia). Pemberian susu probiotik didahului dengan pemberian susu selama tiga minggu

Susu diberikan pagi hari sebanyak 125 cc satu kali sehari, yang tersedia dalam bentuk kemasan kotak. Pada waktu memberikan susu,

susu dimasukkan ke dalam gelas untuk memastikan semua susu sebanyak 125 cc habis diminum. Pemberian susu dilakukan langsung di depan petugas penelitian. Setelah pemberian susu selama tiga minggu, kepada setiap subjek diberikan botol untuk pengumpulan feses. Esok harinya dilakukan pengumpulan sampel (feses) untuk pemeriksaan hitung bakteri usus, aktivitas enzim β -glukuronidase dan β -glukosidase. Pada hari yang sama setelah sampel dikumpulkan, dilanjutkan dengan pemberian susu yang ditambahkan probiotik, yang mengandung 1×10^9 cfu *Leuconostoc mesenteroides* dalam bentuk serbuk, tersimpan dalam *sachet*, dibuka dan serbuk tersebut dimasukkan ke dalam susu 125 cc, jenis susu yang sama seperti yang diberikan pada perlakuan pertama. Jenis probiotik ini diisolasi dari makanan asli Indonesia, khususnya di provinsi Sumatera Barat berbentuk susu fermentasi yang disebut dengan *dadih*. Kultur jenis probiotik yang berasal dari *dadih* ini dilakukan oleh Dr. Ir. Ingrid Surono, di Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), Serpong, Jawa Barat.⁸

Setelah selesai pemberian probiotik selama tiga minggu, diberikan botol untuk mengumpulkan sampel (feses), kesesokan harinya akan dilakukan pengumpulan sampel (feses). Apabila pengambilan sampel tidak dapat dilakukan satu hari setelah selesai perlakuan, maka pemberian susu maupun pemberian probiotik dilanjutkan sampai sampel (feses) dapat diambil.

Pada penelitian ini diharapkan pemberian probiotik selama tiga minggu akan memberikan manfaat yang lebih baik terhadap hitung bakteri dan juga efek terhadap aktivitas enzim.

Pemeriksaan Laboratorium

Dilakukan pengumpulan feses sebanyak tiga kali, yaitu pada praperlakuan saat akan dimulainya pemberian susu, setelah minum susu selama tiga minggu, dan setelah minum susu yang telah ditambahkan probiotik selama tiga minggu. Sebelum dilakukan pemeriksaan laboratorium, bahan disimpan pada suhu -20°C .

Analisis Mikroflora Feses

Dilakukan persiapan sterilisasi alat-alat dan persiapan bahan pembuatan medium untuk

inkubasi. Media untuk bakteri *Coli* digunakan media *violet red bile* (VRB), dan untuk bakteri asam laktat digunakan media MRS (*de Man, Rogosa, Sharpe*) Agar. Bahan yang diperkirakan mengandung lebih dari 300 sel mikroba per gram, diperlukan perlakuan pengenceran sebelum ditumbuhkan pada medium di dalam cawan petri, selanjutnya setelah inkubasi akan terbentuk koloni pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung. Jumlah yang terbaik adalah antara 30 sampai 300 koloni. Pengenceran biasanya dilakukan secara desimal yaitu 1:10, 1:100, 1:1000, dan seterusnya.

Pengambilan sampel dilakukan secara aseptik, dan setelah pengenceran dilakukan pengocokan untuk memisahkan sel-sel mikroba yang bergabung menjadi satu. Dari pengenceran yang dikehendaki, sebanyak 0,1 ml larutan tersebut dipipet ke dalam cawan petri yang berisi medium yang telah disterilkan dan dibekukan. Inkubasi dilakukan pada suhu dan waktu tertentu, sesuai dengan jenis mikroba yang akan dihitung. Selama inkubasi, sel-sel yang masih hidup akan tumbuh dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata. Perhitungan jumlah koloni dilakukan dengan *Quebec Colony Counter* (QCC).

Analisis Enzim Feses

a. β Glukuronidase

Feses yang telah dikumpulkan dan disimpan, ditimbang sebanyak 1g, kemudian ditambahkan 0,1 M buffer kalium fosfat. Pada suspensi ini kemudian dilakukan sonikasi dengan sonikator selama tiga menit. Setelah itu dilakukan sentrifugasi sehingga menghasilkan larutan supernatan yang telah mengandung ekstrak feses. Larutan ini diambil 0,1 ml dan dicampur dengan 0,02 M buffer kalium fosfat, 0,1 Mm EDTA, dan 1 Mm nitrofenil β -D-glukuronida. Reaksi dibiarkan berlangsung selama 30 menit pada suhu 37° C. Akan terjadi reaksi enzim di feses dengan campuran zat-zat tersebut. Reaksi diakhiri dengan penambahan 0,2 M buffer glisin dan 0,2 M NaCl.

Selanjutnya perubahan yang terjadi dibaca pada spektrofotometer pada 540 nm. Jumlah nitrofenol yang dilepaskan pada reaksi terakhir kemudian dibandingkan dengan kurva nitrofenol standar.

b. β -Glukosidase

Persiapan sampai terbentuknya larutan supernatan adalah sama seperti pada pemeriksaan enzim glukuronidase. Larutan ini kemudian dicampur dengan buffer kalium fosfat 0,2 M dan 1 Mm nitrofenil- β -D-glucosida. Reaksi dibiarkan selama 30 menit pada suhu 37° C dan diakhiri dengan penambahan 5ml 0,01 M NaOH. Perubahan yang terjadi dibaca pada spektrofotometer dan hasilnya dibandingkan dengan kurva nitrophenol standar.

Identifikasi Variabel

Pada penelitian ini terdapat dua variabel yang diukur yaitu:

1. Variabel bebas: pemberian susu dengan probiotik, dan pola konsumsi
2. Variabel terikat: hitung bakteri di feses, aktivitas enzim β -glukuronidase, dan β -glukosidase.

Proposal penelitian ini telah mendapat persetujuan Panitia Tetap Etik penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas kedokteran Universitas Indonesia/R.S. Dr. Ciptomagunkusumo

Hasil Penelitian

Gambaran Hasil Pemeriksaan Laboratorium

1. Hitung bakteri

Pemeriksaan laboratorium dilakukan terhadap subjek penelitian pada periode sebelum minum susu dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik. Pemeriksaan meliputi hitung bakteri di feses yaitu bakteri asam laktat, *coliform*, bakteri aerob, bakteri anaerob, dan pemeriksaan aktivitas enzim bakteri di feses yaitu enzim β -glukuronidase dan β -glukosidase (Tabel 1).

Tabel 1. Gambaran Hitung Bakteri

Hitung bakteri (log cfu/g)	Pra-perlakuan (n=34)	Setelah minum susu (n=34)	Setelah minum susu + probiotik (n=34)
Bakteri asam laktat	6.58 ± 1.59	6.46 ± 1.11	7.37 ± 1.32
Bakteri coliform	5.80 ± 1.70	5.92 ± 1.40	6.79 ± 1.58
Bakteri aerob total	9.17 ± 0.87	7.65 ± 1.10	8.56 ± 1.03
Bakteri anaerob total	9.68 ± 0.35	7.67 ± 1,07	8.61 ± 0.96

2. Aktivitas Enzim

Rata-rata aktivitas enzim β -glukuronidase sebelum minum susu adalah $0,08 \pm 0,03$, setelah minum susu adalah $0,10 \pm 0,06$, dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik $0,08 \pm 0,04$.

Tabel 2. Gambaran Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim (μ mol/mg protein per 30 menit)	Pra- perlakuan (n=34)	Setelah minum susu (n=34)	Setelah minum susu + probiotik (n=34)
Enzim β -glukuronidase	0.08 ± 0,03	0.10 ± 0.06	0.08 ± 0.04
Enzim β -glukosidase)	0.18 ± 0.04	0.19 ± 0,03	0.15 ± 0,05

Perbedaan Hitung Bakteri

1. Perbedaan Hitung Bakteri Asam Laktat

Hasil uji statistik terhadap jumlah bakteri asam laktat sebelum minum susu dan setelah minum susu diperoleh nilai $p = 0,674$, maka pada $\alpha = 0,05$ tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Uji statistik terhadap jumlah bakteri asam laktat setelah minum susu dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik menghasilkan nilai $p = 0,001$, sehingga terdapat perbedaan yang signifikan. Uji statistik terhadap jumlah bakteri sebelum minum susu dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik juga menunjukkan peningkatan yang signifikan dengan nilai $p = 0,009$.

2. Perbedaan Hitung Bakteri *Coliform*

Hasil uji statistik terhadap jumlah bakteri *coli* sebelum minum susu dan setelah minum susu didapatkan nilai $p = 0,751$, maka tidak ada perbedaan signifikan ($p > 0,05$). Uji statistik terhadap jumlah bakteri *coli* setelah minum susu dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik terdapat peningkatan yang bermakna dengan nilai $p = 0,018$, sehingga terdapat perbedaan yang signifikan.

Uji statistik terhadap jumlah bakteri *coli* sebelum minum susu dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik terdapat peningkatan bermakna dengan nilai $p = 0,012$ ($p < 0,05$). Hasil pemeriksaan bakteri *coli* ini dapat dilihat pada Tabel 3.

3. Perbedaan Hitung Total Bakteri Aerob

Hasil uji statistik terhadap jumlah total bakteri aerob sebelum minum susu dan setelah minum susu didapatkan nilai $p = 0,001$, sehingga terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Uji statistik terhadap jumlah total bakteri aerob setelah minum susu dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik dihasilkan nilai $p = 0,001$, maka terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Uji statistik terhadap jumlah total bakteri aerob sebelum minum susu dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai $p = 0,005$ ($p < 0,05$). Hasil pemeriksaan bakteri aerob ini dapat dilihat pada Tabel 3.

4. Perbedaan Hitung Total Bakteri Anaerob

Hasil uji statistik terhadap jumlah total bakteri anaerob sebelum minum susu dan setelah minum susu didapatkan nilai $p = 0,001$ sehingga terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Uji statistik terhadap jumlah total bakteri anaerob setelah minum susu dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai $p = 0,002$ ($p < 0,05$). Uji statistik terhadap jumlah total bakteri anaerob sebelum minum susu dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik didapatkan nilai $p = 0,001$, maka terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Hasil pemeriksaan bakteri anaerob ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Distribusi Rata-Rata Hitung Bakteri Sebelum Minum Susu, Setelah Minum Susu, dan Setelah Minum Susu yang Ditambah Probiotik

Hitung bakteri (log cfu/g)	Pra-perlakuan	Setelah minum susu	Setelah minum susu+probiotik	P value Pra-susu	P value susu-probiotik	P value pra-probiotik
Bakteri asam laktat	6,58±1,59	6,46±1,11	7,37±1,32	0,674	0,001*	0,009*
Bakteri <i>coliform</i>	5,80±1,70	5,92±1,40	6,79 ±1,58	0,751	0,018*	0,012*
Bakteri aerob total	9,17±0,87	7,65±1,10	8,56±1,03	0,001*	0,001*	0,005*
Bakteri anaerob total	9,68±0,35	7,67±1,07	8,61±0,94	0,001*	0,002*	0,001*

* $p < 0.05$

Perbedaan Aktivitas Enzim

Tabel 4 menggambarkan hasil uji t test aktivitas enzim β -glukuronidase dan β -glukosidase, antara praperlakuan dan setelah minum susu, setelah minum susu dan minum susu probiotik, dan praperlakuan dengan setelah minum susu probiotik.

Tabel 4. Aktivitas Enzim β -Glukuronidase dan β -Glukosidase

Aktivitas Enzim (μ mol/mg protein per 30menit)	Pra-perlakuan	Setelah minum susu	Setelah Minum susu + probiotik	P value pra-susu	P value susu-probiotik	P value pra-probiotik
Enzim β -glukuronidase	0.08 \pm 0.03	0.10 \pm 0,06	0.08 \pm 0.04	0.133	0.166	0.788
Enzim β -glukosidase	0.18 \pm 0.04	0.19 \pm 0.03	0.15 \pm 0,05	0.445	0.002*	0.001*

*p < 0.05

1. Enzim β -glukuronidase

Tabel 4. menggambarkan uji statistik terhadap perbedaan aktivitas enzim β -glukuronidase praperlakuan dan setelah minum susu yang menghasilkan nilai p = 0.133, sehingga pada $\alpha = 0.05$ tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Uji statistik terhadap perbedaan aktivitas enzim β -glukuronidase setelah minum susu dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik didapatkan nilai p = 0,166, maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Uji statistik untuk melihat perbedaan aktivitas enzim β -glukuronidase praperlakuan dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik juga tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan p = 0,788 (p>0.05)

2. Perbedaan Aktivitas Enzim β -glukosidase

Hasil uji statistik terhadap aktivitas enzim β -glukosidase sebelum minum susu dan setelah minum susu didapatkan nilai p = 0,445, maka pada $\alpha = 0,05$ tidak terdapat perbedaan yang signifikan (p>0,05). Uji statistik terhadap aktivitas enzim β -glukosidase setelah minum susu dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai p = 0,002 (p<0,05). Uji statistik terhadap aktivitas enzim β -glukosidase sebelum minum susu dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik terdapat penurunan yang signifikan dengan nilai p = 0,001 (p<0,05). Hasil pemeriksaan enzim β -glukosidase ini dapat dilihat pada Tabel 4.

Pembahasan

Gambaran Hitung Bakteri dan Aktivitas Enzim

Hasil pemeriksaan laboratorium hitung jumlah bakteri dan aktivitas enzim dilakukan sebelum perlakuan, setelah pemberian susu, dan setelah pemberian susu yang ditambahkan probiotik. Hitung bakteri dilakukan terhadap bakteri *coliform*, bakteri asam laktat, bakteri aerob dan bakteri anaerob. Aktivitas enzim yang diperiksa adalah β -glukuronidase dan β -glukosidase.

Hitung bakteri asam laktat setelah minum susu dibandingkan dengan hitung bakteri setelah minum susu yang ditambahkan probiotik menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hitung bakteri asam laktat setelah minum susu yang ditambahkan probiotik lebih tinggi dari hitung bakteri setelah minum susu saja. Hasil ini menunjukkan strain bakteri pada probiotik ini menunjukkan efek yang baik untuk meningkatkan bakteri asam laktat di saluran pencernaan.

Semua bakteri asam laktat menghasilkan suatu asam organik yaitu asam asetik (pKa = 4.75), dan asam asetik ini mempunyai efek menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Sorrel dan Speck (1970) dalam penelitiannya juga memperlihatkan efek asam asetik yang dihasilkan *Leuconostoc citrovorum* dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella gallinarium* dan *P.fragi*. Peningkatan bakteri asam laktat setelah pemberian probiotik diharapkan akan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen lain, seperti penghambatan pada pertumbuhan bakteri aerob dan anaerob.

Hasil Uji *Pairs t-test* menunjukkan perbedaan yang signifikan antara hitung bakteri *Coliform* setelah pemberian susu dan setelah pemberian susu yang ditambahkan probiotik. Hitung bakteri setelah susu yang ditambahkan probiotik lebih tinggi dari hitung bakteri setelah minum susu. Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Sreekumar dan Hosona (2000) yang menghasilkan efek menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* pada tikus yang diberikan probiotik yang mengandung *Lactobacillus acidophilus*. Jenis probiotik pada penelitian ini tidak menunjukkan efek menghambat pertumbuhan *coliform*.

Hitung total bakteri aerob dan anaerob menunjukkan penurunan yang signifikan antara praperlakuan dan setelah diberi susu. Juga terjadi penurunan yang signifikan antara setelah pemberian susu dengan setelah pemberian probiotik. Perubahan pada hitung bakteri aerob dan anaerob ini diakibatkan adanya perubahan pada bakteri asam laktat, *coliform*, dan bakteri aerob dan anaerob lain pada saluran pencernaan. Peningkatan bakteri asam laktat dan *coliform* menekan pertumbuhan bakteri aerob dan anaerob, sehingga jumlahnya berkurang. Hal ini berbeda dengan penelitian Hosoda dan Hashimoto (1996), pada pemberian probiotik yang mengandung *Lactobacillus acidophilus* LA-2 pada orang dewasa usia 26-38 tahun, tidak didapatkan efek penurunan terhadap bakteri aerob dan anaerob.¹⁰

Penurunan bakteri aerob dan anaerob seperti *Clostridia* dan *Bacterioides* juga akan menurunkan aktivitas enzim yang dihasilkannya, sehingga akan menekan perubahan bahan prokarsinogen menjadi karsinogen sebagai pemicu terjadinya kanker kolon.¹¹

Dalam penelitian ini aktivitas enzim yang diperiksa adalah enzim β -glukuronidase dan β -glukosidase. Aktivitas enzim bakteri lain seperti *azoreductase*, *nitroreductase* dan *7 α -dehydroxylase* tidak diperiksa. Aktivitas enzim menggambarkan enzim yang dihasilkan oleh bakteri dalam saluran pencernaan yang akan mengubah zat yang bersifat prokarsinogen menjadi karsinogen di saluran cerna, sehingga dapat memicu terjadinya kanker kolorektal.

Aktivitas enzim β -glukuronidase antara praperlakuan dan setelah minum susu tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, dengan aktivitas enzim setelah minum susu lebih tinggi. Aktivitas enzim β -glukuronidase antara setelah minum susu dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, dengan aktivitas enzim setelah pemberian susu yang ditambahkan probiotik lebih rendah.

Aktivitas enzim β -glukuronidase rendah pada *Bifidobacteria* dan *Lactobacillus*, dibandingkan pada *Bacterioides*, *Clostridia*, dan *Enterobacteria* (Wollowski dkk, 2001). *E. Coli* juga menghasilkan enzim β -glukuronidase, sehingga dengan kenaikan jumlah bakteri *coliform* dan penurunan jumlah total bakteri anaerob dan aerob mengakibatkan aktivitas enzim β -glukuronidase secara keseluruhan tidak

berubah, seperti yang ditunjukkan pada hasil penelitian ini.

Aktivitas enzim β -glukosidase antara praperlakuan dan setelah minum susu terdapat perbedaan yang signifikan, dengan aktivitas enzim yang lebih tinggi setelah minum susu. Aktivitas enzim β -glukosidase antara setelah minum susu dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik menunjukkan perbedaan yang signifikan, dengan aktivitas enzim setelah minum susu yang ditambahkan probiotik lebih rendah. Aktivitas enzim praperlakuan dan setelah minum susu yang ditambahkan probiotik juga menunjukkan perbedaan yang signifikan, dengan aktivitas enzim setelah minum susu yang ditambahkan probiotik lebih rendah.

Pada penelitian ini penurunan aktivitas enzim β -glukosidase kemungkinan akibat penghambatan produksi enzim yang dihasilkan bakteri *Bacterioides* dan *Enterobacteriaceae* (bakteri anaerob), jumlah bakteri ini menurun setelah minum probiotik.

Efek probiotik terhadap aktivitas enzim sangat bervariasi, tergantung pada jenis bakteri yang terdapat pada probiotik tersebut. Penelitian Goldin dan Gorbach memperlihatkan pemberian susu yang ditambahkan *Lactobacillus acidophilus* manusia, menurunkan aktivitas enzim β -glukuronidase, azoreduktase, dan nitroreduktase.¹²

Kesimpulan

1. Seperti yang diharapkan setelah pemberian susu probiotik terjadi kenaikan hitung bakteri asam laktat, penurunan total bakteri aerob dan anaerob, serta penurunan enzim β -glukosidase yang berperan terhadap pencegahan terjadinya kanker kolorektal.
2. Tidak terjadi penurunan hitung bakteri *coliform*, dan penurunan aktivitas enzim β -glukuronidase.

Saran

Penelitian ini menunjukkan potensi probiotik dalam mencegah kanker kolorektal, oleh karena itu disarankan pemberian probiotik pada lansia, karena kelompok ini mempunyai risiko yang lebih tinggi untuk terjadinya kanker kolorektal. Sediaan probiotik di pasaran banyak dalam bentuk susu, sehingga mudah untuk dikonsumsi oleh lansia.

Namun demikian oleh karena pada penelitian ini tidak sepenuhnya menunjukkan hasil yang diharapkan, yaitu tidak terjadi penurunan hitung bakteri *coliform* dan penurunan aktivitas enzim β -glukuronidase, maka disarankan agar penelitian yang sama dilakukan dengan desain yang lebih baik dan jumlah sampel yang mencukupi dan representatif untuk populasi yang lebih bervariasi agar dapat digeneralisasikan.

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui aktivitas enzim manakah yang paling mempengaruhi terjadinya perubahan prokarsinogen menjadi karsinogen dalam tubuh.

Daftar Pustaka

1. Gibson G.R., Roberfroid M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota. Introducing the concept of probiotics. *J. Nutr.* 1995;125, 1401-12
2. Schrezenmeir J., de Vrese M. Probiotics, prebiotics and synbiotics—approaching a definition. *Am. J. clin. Nutr.* 2001; 73 (suppl). 361S-4S
3. Hosono A., Nakazawa Y. The nutritional and physiological value of fermented milks and lactic milk drinks dalam *Function of fermented milk challenges for the health science.*, Elsevier applied science, London and New York. 1984, p. 217 – 46.
4. Salminen S., Roberfroid M., Ramos P., Fonden R. 1998. Prebiotics substrat and lactic acid bacteria dalam *Lactic acid bacteria microbiology and functional foods.* Marcel Dekker, Inc. New York, NY
5. Roffer J. Lactic acid bacteria and cancer: mechanistic perspective. *Brith. J. Nutr.* 2002.88, Suppl.1, S89 – S94.
6. Nugroho. Keperawatan geratrik. Jakarta, EGC 2000,
7. Muis S.F. Gizi pada usia lanjut dalam *Buku Ajar Geriatri* (editor. Darmodjo R.B.dan Martono H.H.), Balai Penerbit Pustaka Fak. Ked. U.I. 2000 h. 479 -80..
8. Surono, I.S. In vitro Probiotics properties of indigenous dadih lactic acid bacteria. *Asian-Aust.J. of Anim.Sci.* 2003.16:726-31.
9. Pato U., Surono I.S., Latif A., Tamba E. Effect of administration of milk containing dadih lactic bacteria IS-27526 on fecal microbiota and fecal enzymes in

- Indonesian Elderly. The International Symposium Probiotic For Human Health and Immunity. International Joint Research Grant Program. Riset Unggulan Terpadu Internasional (RUTI) Technology Center for the Assesment and Application of Biotechnology, BPPT. 2004.2-1
10. Hosoda M., H Gill C.I.R.Rowland I.R. Diet and cancer: assessing risk. *Brith. J. Nutr.* 2002; 88 Suppl.1: S73 – S87.
 11. Tuohy K.M., Probert H.M., Smejkal C.W., Gibson G.R. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Drug Discovery Today* 2003 ;8(15):692-700
 12. Goldin B.R., Gorbach S.L. The Effect of milk and lactobacillus feeding on human bacterial enzyme activity. *Am.J.Clin.Nutr* 1984.39: 756-61