

Hasil Laporan Penelitian

Efek Antidiare Minuman Probiotik Jus Jambu biji, Apel, Melon dan Lemon (Japelemo) dengan Starter Bakteri *Lactobacillus achidophilus* dan *Lactobacillus casei* Terhadap Mencit Balb/c



Oleh

Reza Anindita, S.Si., M.Si.
apt. Nofria Rizki Amalia Harahap, M.Farm
apt. Ariska Deffy Anggarany, M.Farm

**SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
MITRA KELUARGA
BEKASI
2023**

HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN PENELITIAN

1. Judul Penelitian : Efek Antidiare Minuman Probiotik Jus Jambu biji, Apel, Melon dan Lemon (Japelemo) dengan Starter Bakteri *Lactobacillus achidophilus* dan *Lactobacillus casei* Terhadap Mencit Balb/c
2. Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap : Reza Anindita
 - b. Jenis Kelamin : L
 - c. NIDN : 0311078501
 - d. Jabatan Struktural : Koordinator pertemuan dan publikasi ilmiah
 - e. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
 - f. Fakultas/Jurusan/Prodi : S-1 Farmasi
 - g. Alamat : Jl. Pengasinan Rawa Semut, Margahayu Bekasi Timur 17113
 - h. Telp/Faks/E-mail : 88345897
 - i. Alamat Rumah : Jalan Narogong Megah I. D/119
 - j. Telp/Faks/E-mail : 087887890529
3. Jumlah Anggota Peneliti : 2 (dua)
- Nama Anggota : 1. apt. Nofria Rizki Amalia Harahap, M.Farm
2. apt. Ariska Deffy Anggarany, M.Farm
- 5 Lokasi Penelitian : Laboratorium Bakteriologi STIKes Mitra Keluarga
Jumlah biaya penelitian : Rp. 8.820.000

Bekasi, 28 Juli 2022

Kepala LPPM



Afrinia Eka Sari, S.TP. M.Si.
NIP. 15081608

Ketua Peneliti



Reza Anindita, S.Si. M.Si.
NIP.19081649

Menyetujui,
Ketua STIKes Mitra Keluarga



Dr. Susi Hartati, S.Kp., M.Kep., Ns. Sp. Kep. An.
NIP. 95080501

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR TABEL	v
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
1. Tujuan Umum	5
2. Tujuan Khusus	5
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i>	8
B. Bakteri <i>Lactobacillus casei</i>	8
C. Minuman Probiotik	10
D. Hewan uji.....	13
E. Pengujin efek antidiare	14
BAB III METODE PENELITIAN	16
A. Desain Penelitian.....	16
B. Lokasi dan Waktu Penelitian	16
C. Populasi dan Sampel	16
D. Variabel Penelitian	17
E. Definisi Operasional.....	17
F. Bahan & Alat Penelitian.....	19
G. Cara Kerja Penelitian	20
H. Pengolahan & Analisa Data	25
I. Etika Penelitian	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i>	8
Gambar 2.2 Bakteri <i>Lactobacillus casei</i>	9

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kriteria hewan uji yang digunakan dalam uji toksisitas	14
Tabel 3.1 Definisi Operasional	18
Tabel 3.2 Luas area kandang per ekor hewan uji	20
Tabel 3.3 Formulasi F1, F2, F3 minuman probiotik japelemo	22

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diare adalah penyakit yang membuat penderitanya sering mengalami buang air besar dengan kondisi tinja yang encer atau berair. Intensitas diare terjadi minimal tiga kali sehari, atau lebih sering dengan volume atau berat lebih dari 200 mL atau 200 g dalam durasi 24 jam. Meskipun diare adalah kondisi yang dapat dicegah, hal itu mempengaruhi hampir semua populasi global dan bertanggung jawab atas 5% dari gangguan kesehatan dan 4% dari semua kematian di seluruh dunia (Zewdie, 2020). Diare merupakan penyebab utama kedua mortalitas dan morbiditas di dunia, khususnya pada anak di bawah 5 tahun di dunia (Gupta, 2015; Srivastava, 2022). Secara global, ada 1,7 miliar kasus penyakit diare pada anak-anak setiap tahun (World Health Organization, 2017). Selain dialami lebih umum pada anak-anak, diare juga sering dialami oleh orang dewasa yang lebih tua. Kematian akibat diare pada orang dewasa yang lebih tua (khususnya di antara mereka yang termasuk dalam populasi di atas usia 70 tahun) tiga kali lebih tinggi dibandingkan anak di bawah usia lima tahun. Menurut Riskesdas 2018, tercatat sebanyak 18.565 (8,1%) kasus diare pada usia 75 tahun ke atas (Kemenkes, 2019). Kondisi diare tidak hanya menyebabkan ketidaknyamanan fisik tetapi juga tekanan emosional dikarenakan penderita akan berada dalam ketakutan mengalami inkontinensia feses (Srivastava, 2022).

Diare merupakan masalah penting di Indonesia. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia mengindikasikan diare sebagai penyebab utama kematian pertama pada anak di bawah lima tahun, serta menyumbang 10,7% dari kematian pada tahun 2019. Prevalensi diare pada anak di bawah lima tahun adalah 17%, terhitung sekitar empat juta kasus pada tahun 2018 di Indonesia. Pasien dengan diare sedang hingga berat memiliki risiko kematian 8,5 kali lebih tinggi daripada

tanpa diare (Thobari, 2022). Prevalensi kejadian diare di Indonesia mengalami peningkatan yaitu 2,4% pada tahun 2013 menjadi 11,0% pada tahun 2018 (Kemenkes, 2019), terkhusus di provinsi Jawa barat, tingkat prevalensi diare sebanyak 7,4% dengan tercatat sebanyak 18.225 anak dengan diare golongan umur <1 tahun, 73.188 anak dengan usia 1-4 tahun, 182.338 anak dengan diare golongan usia 5-14 tahun, 165.644 kasus diare pada usia 15-24 tahun, serta 159.708 kasus pada usia 25-34 tahun (Kemenkes, 2019).

Empat mekanisme patofisiologi penyebab diare, antara lain : perubahan transpor ion aktif melalui penurunan penyerapan natrium atau peningkatan sekresi klorida, perubahan motilitas usus, peningkatan osmolaritas luminal, dan peningkatan tekanan hidrostatik jaringan. Mekanisme ini telah dikaitkan dengan empat kelompok diare klinis yang luas: sekretori, osmotik, eksudatif, dan perubahan transit usus (Dipiro, 2017). Beberapa agen dapat menyebabkan diare, termasuk diantaranya seperti antibiotik (Clindamycin, tetracyclines, sulfonamides), infeksi bakteri (*Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*) (Akhondi, 2022). Agen lain penyebab diare adalah oleum ricini/minyak jarak. Oleum ricini adalah pencahar surfaktan anionik. Minyak jarak yang dikonsumsi secara oral akan dihidrolisis di usus kecil oleh lipase pankreas untuk menghasilkan gliserol dan asam risinoleat. Asam risinoleat bertindak sebagai iritan lokal yang mengakibatkan sekresi elektrolit di usus kecil dengan mengurangi penyerapan bersih cairan dan elektrolit dan merangsang peristaltik usus. Karena ricinoleate bekerja di usus kecil, akumulasi cairan dan evakuasi terjadi dalam 1-6 jam, dan berlanjut hingga senyawa tersebut dikeluarkan melalui usus besar (European Medicines Agency, 2016).

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman sumber daya alam yang sangat tinggi, baik itu flora, fauna, dan mikroorganisme (Iswandi, 2020). LIPI (2021) menyatakan bahwa Indonesia memiliki sekitar 15.000 tumbuhan yang berpotensi berkhasiat obat (Setiawan, 2022). Tanaman yang mengandung senyawa kimia tanin, flavonoid, alkaloid, saponin dan berperan sebagai antidiare (Fauzi,

2020). Saponin dapat meningkatkan penyerapan usus sedangkan flavonoid dapat mengurangi peristaltik dan sekresi di usus (Pandango, 2018). Alkaloid dapat menekan diare yang dikaitkan dengan *Escherichia coli*, serta memodulasi fungsi vital, seperti peristaltik dan pH usus (Ni, H., 2016). Tanin adalah konstituen kimia utama yang bertanggung jawab atas aktivitas antidiare karena efek antisekresinya (Mosisa, 2020).

Salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai obat di Indonesia adalah jambu biji (*Psidium guajava* L.) dari famili Myrtaceae. Buah jambu biji mengandung vitamin A dan C, beberapa mineral (zat besi, kalsium, fosfor), serta kandungan fitokimia seperti saponin, flavonoid (guaijavarin dan quercetin) (Koto-te-Nyiwa Ngbolua, 2018). Berbagai bagian jambu biji, yaitu akar, daun, kulit kayu, batang, dan buah telah digunakan untuk mengobati sakit perut, antispasmodik, obat batuk, antiinflamasi, antidiare, antihipertensi, antiobesitas, dan antidiabetes (Kumar, 2021).

Efek antidiare ekstrak daun *P. guajava* yang dilakukan pada tikus (*Citrobacter rodentium*) menunjukkan bahwa daun *P. guajava* berpotensi untuk digunakan dalam pengobatan infeksi diare. Penelitian ini mendeteksi *bacterial load* dalam sampel tinja mencit. Pada hari ke-4, *bacterial load* pada sampel tinja kelompok uji lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Tikus yang diberikan ekstrak daun *P. guajava* menunjukkan pembersihan infeksi lebih cepat (pada hari ke-19) dibandingkan dengan kelompok yang terus menunjukkan infeksi hingga hari ke-29 (Gupta, 2015).

Makanan fungsional yang dihasilkan dari buah akhir-akhir ini menarik lebih banyak perhatian untuk berkontribusi terhadap kesehatan usus. Minuman dari buah dapat mengubah komposisi mikrobiota usus dan sangat penting untuk kesehatan tubuh (Guo, et al., 2022). Apel (*Malus domestica*) merupakan buah yang digemari oleh masyarakat Indonesia. Berdasarkan Biro Pusat Statistik, rata-rata konsumsi apel penduduk Indonesia adalah 0,6 kg perkapita pertahun, dan mengalami peningkatan rata-rata 0,02% tiap tahun (Cempaka, 2014). Manfaat dari buah apel

dalam pengobatan tradisional, yaitu memperkuat sistem kardiovaskular, pernapasan, dan pencernaan, untuk meningkatkan nafsu makan, antiemetik dan antidiare (Darvishpour, 2021). Penelitian oleh (Guo et al, 2022) menunjukkan bahwa jus apel yang difermentasi dengan *Lactobacillus plantarum* 1% dapat meringankan gejala diare yang disebabkan oleh antibiotik (ceftriaxone sodium), menurunkan tingkat buang air besar secara signifikan dibandingkan dengan kontrol, dan dapat mempromosikan kesehatan usus dengan memperbaiki morfologi usus (Guo, et al., 2022).

Citrus limon, dari famili Rutaceae umumnya dikenal sebagai lemon. Buah ini memiliki manfaat pengobatan yang penting. Kulit lemon mengandung pektin yang mampu menurunkan kolesterol plasma dan hati, Sebuah penelitian telah menunjukkan bahwa ekstrak heksana kulit lemon mengurangi frekuensi buang air besar, menghambat akumulasi cairan usus dan mengurangi motilitas usus dengan merangsang reseptor β adrenergik usus (Adeniyi, 2017).

Melon (*Cucumis melo*) dikategorikan sebagai agen kuratif alami yang berperan sebagai terapi dan pencegahan terhadap sejumlah penyakit kronis seperti penuaan, peradangan, dan kanker. *C. melo* direkomendasikan untuk pengobatan gangguan kardiovaskular, diuretik, lambung (Garcia, 2020). Menurut penelitian oleh (Wahid, 2022), aktivitas antidiare ekstrak biji *C. melo* diteliti pada tikus yang diinduksi minyak jarak. Hasil persentase perlindungan (proteksi) terhadap buang air besar tikus yang diinduksi oleum ricini dan setelahnya diberikan ekstrak air biji *C.melo* dosis 300 mg/kgBB adalah $80,62 \pm 3,7\%$ dibandingkan loperamide ($87,55 \pm 3,3\%$). Ekstrak biji *C. melo* juga memiliki aktivitas antiperistaltik. Persentase indeks peristaltik diukur melalui jarak yang ditempuh oleh arang (norit). Indeks peristaltik ekstrak air *C.melo* dengan dosis 300 mg/kg adalah $16,52 \pm 4,2\%$ dibandingkan loperamide ($7,95 \pm 2,3\%$). Efek antidiare *C. melo* diproduksi dengan mengubah gen pengatur kontraksi otot polos yang dimediasi kalsium (Wahid, 2022).

Saat ini, pencarian terus menerus untuk mengembangkan pengobatan diare yang hemat menjadi tantangan. Tumbuhan obat dapat dieksplorasi lebih jauh sebagai alternatif pengobatan diare. Minuman probiotik dapat dikembangkan sebagai antidiare karena di dalam saluran pencernaan dapat memperbaiki mikroflora usus sehingga dapat menguntungkan kesehatan pencernaan. Oleh karena itu, peneliti ingin melakukan penelitian efek antidiare minuman probiotik jus jambu biji, apel, melon dan lemon (japelemo) dengan starter bakteri *Lactobacillus achidophilus* dan *Lactobacillus casei* terhadap mencit Balb/c.

B. Perumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah Bagaimana pengaruh minuman probiotik jus japelemo terhadap aktivitas antidiare pada mencit Balb/c yang diinduksi diare?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Menentukan aktivitas antidiare dari minuman probiotik japelemo pada mencit yang diinduksi diare oleh *oleum ricini*.

2. Tujuan Khusus

- a. Menentukan aktivitas antidiare Minuman Probiotik Jus Japelemo dengan metode transit intestinal pada hewan uji mencit Balb/c
- b. Menentukan aktivitas antidiare Minuman Probiotik Jus Japelemo dengan metode proteksi terhadap diare pada hewan uji mencit Balb/c yang diinduksi diare menggunakan oleum ricini
- c. Membandingkan komposisi yang paling efektif dalam mengatasi diare pada mencit Balb/c

D. Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Penelitian ini bermanfaat untuk menambah pengetahuan dan pengalaman peneliti untuk melakukan dan menganalisis aktivitas antidiare dari berbagai komposisi probiotik yang berguna untuk pemilihan produk probiotik yang tepat sebagai tindakan untuk mengatasi diare.

2. Bagi Masyarakat

Penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai aktivitas antidiare dari berbagai komposisi probiotik yang berguna untuk pemilihan produk probiotik yang tepat sebagai tindakan untuk mengatasi diare.

3. Bagi Institusi

Penelitian ini dapat bermanfaat sebagai sumber informasi mengenai efektivitas produk inovasi minuman probiotik jus japelemo secara pra-klinik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Bakteri *Lactobacillus Acidophilus*

1. Deskripsi *Lactobacillus Acidophilus*

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* adalah salah satu bakteri probiotik dari kelompok bakteri Asam laktat (LAB), yang merupakan bakteri gram positif dan ramah. Bakteri. bakteri homofermentatif adalah bakteri yang menghasilkan menghasilkan hanya satu jenis produk. Bakteri jenis ini dapat difortifikasi ke dalam makanan untuk meningkatkan kesehatan tubuh. (Yudiastuti *et al.*, 2022). *Lactobacillus acidophilus* memiliki sifat therapeutic terutama mengontrol gangguan pencernaan dan dapat bertahan hidup lama pada pH rendah diantara jenis bakteri *Lactobacillus* lainnya (Syachroni *et al.*, 2020).

a. Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Lactobacillus acidhophilus* menurut Lestari dan Siti, (2021) sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Order	: <i>Lactobacillales</i>
Family	: <i>Lactobacillaceae</i>



Gambar 2. 1 *Lactobacillus acidophilus*

Sumber : (Wardani, 2017)

b. Morfologi *Lactobacillus Acidophilus*

Genus Lactobacilli masuk kedalam kelompok terbesar dalam bakteri asam laktat, merupakan bakteri gram positif, tidak membentuk spora. Bakteri ini secara alami ada pada tanaman yang kaya akan nutrisi, *Lactobacilli* biasanya di isolasi dari sumber-sumber yang kaya akan karbohidrat, seperti pada membran mukosa manusia atau hewan, bahan yang berasal dari tanaman, limbah, produksi susu fermentasi, makanan fermentasi dan makanan basi (Lestari dan Siti, 2021). *Lactobacillus acidophilus* tidak membentuk spora dan tidak mempunyai alat gerak. Berbentuk batang atau batang pendek bersifat heterofermentatif yang memproduksi nutrisi kompleks seperti karbohidrat, asam amino, peptida, asam lemak, garam, turunan asam nukleat, dan vitamin.

B. Bakteri *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei adalah salah satu di antara beberapa spesies *Lactobacillus* yang memiliki potensi kesehatan. Secara komersial, mereka digunakan untuk memfermentasi produk susu, dan menghasilkan makanan dengan rasa dan tekstur yang lebih baik. Selain itu, bakteri ini menghasilkan banyak metabolit bioaktif yang dapat memberikan manfaat

bagi inang saat dikonsumsi, sehingga dianggap sebagai probiotik (Hill, 2018).

Berikut merupakan klasifikasi *Lactobacillus casei* menurut Nurhalimah, 2018 sebagai berikut :

Filum : Firmicutes
Kelas : Bacili
Ordo : Lactobacillales
Famili : Lactobacillaceae
Genus : *Lactobacillus*
Spesies : *Lactobacillus casei*



Gambar 2.2 Bakteri *Lactobacillus casei*
Sumber : Fauziah *et al.*, 2019

Lactobacillus casei memiliki aktivitas sebagai probiotik, Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang, jika diberikan dalam jumlah yang cukup, memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya. Salah satu manfaat terkait Kesehatan yang telah diteliti adalah efeknya terhadap diare. Kemampuan strain *L. casei* untuk mencegah diare terkait antibiotik dikaitkan dengan kemampuannya untuk mempertahankan keragaman mikrobioma usus individu selama perawatan antibiotik. Hal ini disebabkan karena perlekatan langsung bakteri tersebut ke sel epitel usus (Hill, 2018).

C. Minuman Probiotik

Minuman probiotik merupakan minuman yang terdapat kandungan bakteri asam laktat (BAL), hal ini menguntungkan bagi saluran pencernaan pada manusia. Produk minuman probiotik ini dapat menghambat bakteri patogen dan memiliki nilai nutrisi yang baik, sehingga produk probiotik ini dapat memberi manfaat kesehatan serta terapeutik. Fungsi ini diperoleh karena membawa bakteri hidup ke dalam saluran pencernaan dimana dapat memperbaiki mikroflora usus sehingga dapat mengarah pada bakteri-bakteri yang menguntungkan kesehatan pada manusia (Yulia *et al.*, 2020).

Bakteri asam laktat dapat mudah diterima sebagai bahan tambahan dalam makanan baik oleh konsumen maupun dari ahli kesehatan, hal ini dikarenakan bakteri ini dapat berproses dengan baik pada fermentasi makanan. Macam-macam genus bakteri yang tergolong dalam BAL adalah *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lauconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, dan *Propionibacterium*. Salah satu bakteri yang sering digunakan pada pembuatan minuman probiotik adalah golongan *Lactobacillus*, bakteri ini dapat menurunkan pH lingkungan dengan cara mengubah gula menjadi asam laktat. Pada hal ini dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri patogen. Keuntungan inilah yang membuat bakteri golongan *Lactobacillus* menjadi agen dari produk probiotik di seluruh dunia, salah satu contohnya adalah pada bakteri *Lactobacillus casei* strain Shirota yang diproduksi oleh perusahaan jepang (Sumaryati, 2017).

Japelemo digunakan pada penelitian ini karena memiliki aktivitas sebagai antidiare. Berikut adalah deskripsi khasiat masing-masing komposisi minuman probiotik japelemo.

- a. Jambu biji (*Psidium guajava L*)

Jambu biji memiliki kandungan kimia, yaitu senyawa flavonoid, seperti guaijavarin, kuersetin, kuersitrin, isokuersetin, minyak atsiri, tanin, dan sitosterol. Ekstrak air daun jambu biji memiliki khasiat sebagai antidiare karena dapat menurunkan efek peristaltic. Salah satu penelitian menunjukkan bahwa Ekstrak metanol daun jambu biji yang diberikan secara oral dengan dosis 50-200 mg/kg BB dapat menghambat diare pada tikus yang diinduksi dengan minyak jarak, serta meningkatkan konsistensi feses tikus. Efek antidiare dari ekstrak daun jambu melalui penghambatan motilitas usus (Kemenkes RI, 2016).

b. Apel (*Psidium guajava L*)

Apel adalah salah satu tanaman buah paling populer di seluruh dunia. Buah ini memiliki kandungan flavonoid, polifenol, serat, dan berbagai bahan aktif biologis, yang mampu memodulasi mikroorganisme dengan meningkatkan bakteri menguntungkan. Tanin terkondensasi, bahan utama polifenol dalam apel, memiliki sifat antimikroba. Penelitian oleh (Guo et al, 2022) menunjukkan bahwa jus apel yang difermentasi dengan *Lactobacillus plantarum* 1% (*fermented apple juice/FAJ*) dapat meringankan gejala diare yang disebabkan oleh antibiotik (*ceftriaxone sodium*). Pada penelitian ini, gejala diare mencit diamati selama periode pengamatan 120 menit, dinilai menggunakan tiga indikator: berat keluaran feses, jumlah total keluaran feses dan laju buang air besar ($\text{jumlah feses encer pada mencit/jumlah total feses} \times 100\%$). Berat badan dan gejala diare diukur setiap hari selama seluruh periode percobaan. Pada akhir percobaan (pada hari ke-8), mencit dieuthanasia, dan diambil sampel usus (difiksasi dalam larutan paraformaldehyde 4%) untuk pemeriksaan histopatologi. JAF menurunkan tingkat buang air besar secara signifikan

dibandingkan dengan kontrol, dan dapat mempromosikan kesehatan usus dengan memperbaiki morfologi usus (Guo, et al., 2022).

c. Melon (*Cucumis melo L.*)

Cucumis melo Linn berasal dari famili Cucurbitaceae memiliki buah dengan rasa yang lezat dan nilai gizi yang tinggi, seperti asam amino, protein, karbohidrat, vitamin A dan C, B1 dan B2, piridoksin, niasin, dan folat dalam jumlah yang lebih kecil, mineral termasuk kalsium, besi, kalium, fosfor, magnesium, dan natrium. Melon mengandung berbagai asam lemak, polifenol, karotenoid, kuersetin yang memiliki beberapa manfaat kesehatan, termasuk penyakit kronis, peradangan, untuk masalah gastrointestinal, peredaran darah, saraf, dan urogenital (Wahid, 2022).

Menurut penelitian oleh (Wahid, 2022), aktivitas antidiare ekstrak biji *C. melo* diteliti pada tikus yang diinduksi minyak jarak. Hasil persentase perlindungan (proteksi) terhadap buang air besar tikus yang diinduksi oleum ricini dan setelahnya diberikan ekstrak air biji *C.melo* dosis 300 mg/kgBB adalah $80,62 \pm 3,7\%$ dibandingkan loperamide ($87,55 \pm 3,3\%$). Ekstrak biji *C. melo* juga memiliki aktivitas antiperistaltik. Persentase indeks peristaltik diukur melalui jarak yang ditempuh oleh arang (norit). Indeks peristaltik ekstrak air *C.melo* dengan dosis 300 mg/kg adalah $16,52 \pm 4,2\%$ dibandingkan loperamide ($7,95 \pm 2,3\%$). Efek antidiare *C. melo* diproduksi dengan mengubah gen pengatur kontraksi otot polos yang dimediasi kalsium (Wahid, 2022).

d. Lemon (*Citrus limon*)

Citrus limon, umumnya dikenal sebagai lemon, dari keluarga Rutaceae. Buah jeruk terutama digunakan oleh industri pengolahan

sari buah, yang umumnya kulitnya dibuang begitu saja. Namun, beberapa laporan menunjukkan bahwa kulit ini memiliki manfaat pengobatan yang penting. Kulit lemon mengandung pektin, yang mampu menurunkan plasma dan kolesterol hati. Kulit lemon juga telah dilaporkan efektif dalam menyembuhkan penyakit batu ginjal dan dapat digunakan untuk mencegah penyakit dan kekambuhannya. Literatur menunjukkan bahwa ekstrak heksan kulit lemon memiliki aktivitas antidiabetes. Selain itu, dua konstituen aktif kulit lemon, limonene dan salvestrol Q40, memiliki sifat antikanker. Kulit *C. limon* memiliki efek antidiare melalui mekanisme antisekresi dan antimotilitas yang bekerja melalui sistem β adrenergic. Ekstrak heksan kulit lemon (HECLP) menghasilkan penurunan yang signifikan ($P < 0,05$) dalam jumlah total berat feses basah yang dikeluarkan dibandingkan dengan kelompok kontrol. HECLP 20 mg/kg menghasilkan penghambatan 34,2%, sedangkan obat standar, loperamide, menghasilkan efek penghambatan terbesar 68,4%. Ekstrak heksan kulit lemon memiliki efek antiperistaltik. Nilai persentase indeks peristaltic yang dihasilkan oleh pemberian ekstrak kulit lemon dosis 20 mg/kgbb lebih rendah (21.40 ± 1.42) dibandingkan kontrol (34.20 ± 4.29) (Adeniyi, 2017).

D. Hewan Uji

Menurut BPOM tahun 2020 hewan pengerat merupakan hewan yang memenuhi persyaratan yaitu cara metabolisme sediaan uji yang serupa dengan manusia, kecepatan tumbuh kembang, dan mudah atau tidaknya cara penanganan pada saat percobaan sehingga hewan pengerat paling banyak digunakan pada uji toksisitas. Hewan uji yang digunakan harus sesuai seperti asal, usia, jenis kelamin, dan berat badan hewan yang digunakan muda

dewasa dengan berat badan tidak lebih dari 20%. Beberapa kriteria hewan dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 2.1 Kriteria hewan uji yang digunakan dalam uji

No	Jenis Hewan	Berat Badan	Rentang Umur
1.	Mencit	20 gram	6-8 minggu
2.	Tikus	120 gram	6-8 minggu
3.	Marmut	250 gram	4-5 minggu
4.	Kelinci	1800 gram	8-9 bulan

Salah satu hewan yang sering digunakan dalam uji coba adalah mencit. Mencit (*Mus musculus*) banyak digunakan karena memiliki siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak perkelahiran banyak, mudah ditangani, dan karakter reproduksinya mirip seperti hewan mamalia lain seperti kambing dan domba. Mencit dapat hidup hingga 1-3 tahun. Hewan ini termasuk hewan pengerat yang dapat dengan cepat berkembang biak, merupakan hewan paling kecil diantara jenisnya, dan memiliki galur mencit yang berwarna putih. Pemeliharaannya yang ekonomis dan efisien dalam segi biaya serta biaya (Al-Gizar *et al.*, 2022). Mencit Balb/C biasanya digunakan untuk produksi plasmacytoma atau tumor yang berasal dari sel plasma (sel darah putih) setelah diinjeksi dengan minyak mineral untuk produksi antibodi monoklonal (Nugroho, 2018).

E. Pengujian Efek Antidiare

Dua metode uji yang bisa digunakan untuk menilai efek antidiare dari suatu sediaan uji, yaitu : metode transit intesinal, dan metode proteksi terhadap diare yang disebabkan oleh oleum ricini. Pada metode transit intesinal, gerakan peristaltik usus diukur dengan menggunakan suatu marker, semakin tinggi gerakan peristaltik usus, maka semakin seringpula terjadi

defakasi yang ditandai dengan semakin besar pula jarak yang ditempuh oleh marker. Obat diare akan mengurangi peristaltik usus sehingga akan memperkecil rasio, sedangkan obat laksansia akan memperbesar rasio, sehingga metode ini juga digunakan pula pada protokol penapisan terarah aktivitas laksansia. Sedangkan pada metode proteksi terhadap diare yang disebabkan oleh oleum ricini, hewan coba diinduksi dengan oleum ricini untuk menyebabkan diare, lalu diberikan suatu obat anti diare dan diamati onset defakasi, perubahan jumlah defakasi dan konsistensi feses. Oleum ricini (minyak jarak) merupakan trigliserida yang berkhasiat sebagai laksansia. Di dalam usus halus, minyak ini mengalami hidrolisis dan menghasilkan asam risinolat yang merangsang mukosa usus, sehingga mempercepat gerak peristaltik dan mengakibatkan pengeluaran isi usus dengan cepat. Dosis oleum ricini adalah 2 sampai 3 sekali makan (15 – 30 ml), diberikan sewaktu perut kosong. Efeknya timbul 1 sampai 6 jam setelah pemberian, berupa pengeluaran buang air besar berbentuk encer (Stevani, 2016).

BAB III METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen, untuk uji efek antidiare minuman probiotik japelemo terhadap mencit putih Balb/C. Pemilihan desain eksperimental, pada penelitian ini dilakukan untuk menguji efek antidiare dari minuman probiotik japelemo dengan starter *Lactobacillus acidophyllus* dan/*Lactobacillus casei* dengan variasi formula F1, F2, dan F3 terhadap mencit putih Balb/C yang diamati selama 4 jam.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari hingga September 2023, di Laboratorium Farmakologi STIKes Mitra Keluarga Bekasi Timur.

C. Populasi dan Sampel

Sampe penelitian yang digunakan adalah minuman probiotik japelemo dengan starter *Lactobacillus acidophyllus* dan/*Lactobacillus casei* dengan variasi formula F1, F2, dan F3. Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan (*Mus musculus*) berusia 6-8 minggu dengan membaginya menjadi 5 kelompok, Pemilihan hewan uji dihitung dengan menggunakan rumus Federer's sebagai berikut: $(n - 1)(t - 1) > 15$, dimana nilai t adalah jumlah kelompok perlakuan dan nilai n adalah jumlah hewan per kelompok perlakuan (Rukmana, 2022):

$$\begin{aligned}(n-1)(t-1) &\geq 15 \\(n-1)(5-1) &\geq 15 \\4(n-1) &\geq 15 \\4n - 4 &\geq 15 \\4n &\geq 19 \\n &\geq 4,75 \quad n \approx 5\end{aligned}$$

Berdasarkan rumus Federer, pada penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok diantaranya kelompok dengan perlakuan kontrol dan kelompok perlakuan FI, FII dan FIII, serta loperamid. Masing-masing dari kelompok terdiri lima ekor mencit putih berumur 2-3 bulan sehingga membutuhkan 25 ekor mencit putih (*Mus musculus*).

Pemberian *oleum ricini* secara oral digunakan untuk menginduksi diare. Pretest untuk diare yang diinduksi minyak jarak pada mencit dilakukan dan semua mencit diharapkan dapat memberikan merespons dengan mengeluarkan kotoran basah. Selain itu, aktivitas antidiare juga diukur melalui gerakan peristaltik usus yang diukur dengan menggunakan suatu marker (norit), semakin tinggi gerakan peristaltik usus, maka semakin seringpula terjadi defakasi yang ditandai dengan semakin besar pula jarak yang ditempuh oleh marker. Obat diare akan mengurangi peristaltik usus sehingga akan memperkecil rasio. Dengan demikian, aktivitas antidiare minuman probiotik dievaluasi sesuai dengan metode yang dijelaskan sebelumnya oleh Adeniyi, 2017; Fitri, 2016; Zewdie, 2020.

D. Variabel Penelitian

Menurut Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan tahun 2017 variabel penelitian ini menggunakan variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas merupakan variabel yang nilainya mempengaruhi variabel lainnya sedangkan variabel terikat atau variabel dependen merupakan variabel yang nilai variabelnya bergantung pada variabel yang lain. Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis minuman probiotik japeleom yang akan digunakan pada mencit Balb/C sedangkan variabel terikatnya adalah berat feses, persen proteksi.

E. Definisi Operasional

Menurut Sugiyono (2018) definisi operasional adalah variabel penelitian atau sifat, objek, maupun kegiatan yang memiliki variasi tertentu yang telah

ditetapkan oleh peneliti tersebut, hal ini digunakan untuk dipelajari dan ditarik kesimpulannya. Berikut merupakan definisi operasional untuk penelitian ini, dapat dilihat pada tabel 3.1

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Hasil Ukur	Alat Ukur	Skala
Dosis minuman probiotik japelemo	Minuman probiotik yang terbuat dari buah jambu biji merah, apel, lemon, dan melon, dengan starter <i>Lactobacillus casei/Lactobacillus acidophilus</i> atau keduanya yang dibuat dengan dosis bervariasi	Dalam satuan mg	Gelas ukur, dan pipet tetes, jarum gavage dengan spuit 1 mL	Rasio
Frekuensi defekasi	Jumlah feses yang diamati setiap 30 menit selama 4 jam. Apabila frekuensi defekasi kelompok uji lebih kecil dibandingkan kontrol, maka sampel yang diuji memiliki aktivitas antidiare	Jumlah (kali)	Secara visual	Rasio
Berat feses	Hasil penimbangan feses yang diamati setiap 30 menit selama 5 jam. Apabila berat feses kelompok uji lebih besar dibandingkan kontrol, maka sampel yang diuji memiliki aktivitas antidiare	Dalam satuan gram	Timbangan analitik, kaca arloji dan pinset	Rasio
Konsistensi feses	Konsistensi feses dilihat secara visual dan dikategorikan menjadi 3, yaitu: padat, lembek, dan cair. Apabila	Kategorikal	Secara visual	Kategorik

	konsistensi feses kelompok uji lebih padat dibandingkan kontrol, maka sampel yang diuji memiliki aktivitas antidiare			
Persentase proteksi	Berat akumulasi feses yang ditampung selama empat jam dibandingkan dengan jumlah feses pada kelompok control (Fitri, 2016)	Persentase (%)	Berat feses basah kelompok uji, dan kelompok kontrol	Rasio
Indeks peristaltik	Ukuran peristaltik dalam sistem GI. Pengurangan peristaltik GI adalah salah satu mekanisme dimana agen antidiare dapat bekerja. Indeks peristaltic diukur melalui rasio jarak yang ditempuh oleh marker (norit) dari pilorus sampai cecum relatif terhadap total panjang usus halus	Persentase (%)	jarak yang ditempuh oleh marker (norit), total panjang usus halus	Rasio

F. Bahan & Alat Penelitian

1. Alat Penelitian

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini diantaranya seperti timbangan analitik (Ohaus MB 120), Alat-alat gelas (beaker glass (Pyrex), batang pengaduk, kaca arloji (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), Alat sonde mencit, Kadang mencit beserta tutup kandang, tempat makan mencit, tempat minum mencit, sekam padi, Oven, Cawan porselin beserta tutupnya, spuit 1 mL.

2. Bahan Penelitian

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah minuman probiotik japelemo dengan starter bakteri *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophillus*, makanan dan minuman mencit, *aquadest* dan mencit putih balb/C.

G. Cara Kerja Penelitian

1. Pemilihan sampel

Sampel yang digunakan adalah minuman probiotik japelemo dengan bentuk formula F1, F2, F3.

2. Kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan uji

Ruangan yang akan digunakan untuk pengujian harus memenuhi persyaratan seperti suhu, kelembapan, dan kebisingan yang sesuai. Pada suhu ruangan diatur menjadi $22^{\circ} \pm 3^{\circ}$ C, dengan kelembapan antara 30-70%, dan penerangan diatur 12 jam terang 12 jam gelap, serta ruangan harus selalu dijaga kebersihannya (BPOM, 2020). Dibawah ini merupakan tabel persyaratan luas area kandang per-ekor menurut *National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (2011).

Tabel 3.2 Luas area kandang per ekor hewan uji

Hewan uji	Bobot badan (g)	Luas kandang minimal (cm ²)	Tinggi kandang minimal (cm)
Mencit	15-25	80	15

3. Pemilihan dan penyiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan dan betina Balb/C yang berbadan sehat sebanyak 15 ekor dengan bobot badan sekitar 20-30 gram. Sebelumnya mencit akan diaklimatisasi selama 7 hari dimana hal ini bertujuan agar hewan dapat beradaptasi dengan suasana di dalam laboratorium supaya hewan uji dapat beradaptasi dengan lingkungan baru. Apabila terdapat yang sakit, mati, dan berat badan turun hingga >10% maka akan dikeluarkan dari penelitian.

4. Penyiapan dan pemberian dosis sediaan uji

Penelitian ini menggunakan metode *Proteksi terhadap diare*. Mencit dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan, dimana tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit yang ditentukan secara acak. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol dan kelompok 2-5 sebagai kelompok perlakuan.

- a. Kelompok kontrol negatif : diberi *aquadest* 0,5 mL
- b. Kelompok kontrol positif : Loperamid 2 mg/kgBB
- c. Kelompok F1 : minuman probiotik japelemo dengan starter *Lactobacillus acidophilus* (2000 mg/kg);
- d. Kelompok F2 : minuman probiotik japelemo dengan starter *Lactobacillus casei* (2000 mg/kg)
- e. Kelompok F3 : minuman probiotik japelemo dengan starter *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus casei* (2000 mg/kg).

Sediaan uji diberikan melalui rute oral diberikan dengan alat suntik yang kompatibel dengan jarum/kanula. Dimasukan ke dalam mulut perlahan lahan diluncurkan melalui langit-langit kebelakang sampai esofagus. Volume maksimum larutan yang dapat diberikan secara oral pada mencit adalah 1,0 mL (Sugihartini dan Fajri, 2017), pada penelitian ini volume larutan yang diberikan kepada hewan uji secara oral adalah sebanyak 0,5 mL.

- a. Pembuatan sediaan uji Suspensi loperamid HCl dosis 2 mg/kgBB

Dosis lazim Loperamid untuk manusia = 2 mg

Konversi dosis untuk mencit BB 20 g

$$= \text{Dosis Lazim} \times \text{Faktor Konversi} = 2 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,0052 \text{ mg}$$

$$\text{Untuk mencit dengan berat } 30 \text{ g} = (30 \text{ g}/20 \text{ g}) \times 0,0052 \text{ mg} = 0,0078 \text{ mg}$$

Dosis ini diberikan dalam volume = 0,2 ml

Dibuat larutan persediaan sebanyak = 100 ml

Jumlah Loperamid yang digunakan =

$$(100 \text{ ml} / 0,2 \text{ ml}) \times 0,0078 \text{ mg} = 3,9 \text{ mg} \sim 4 \text{ mg} = 0,004 \text{ g}$$

$$\% \text{ kadar Loperamid} = (0,004 \text{ g} / 100\text{ml}) \times 100\% = 0,004 \%$$

Loperamid HCl tablet (kekuatan 2 mg/tablet) disediakan sebanyak 2 tablet dan digerus hingga homogen. Serbuk loperamid HCl ditimbang sebanyak 0,004 gram, kemudian ditambahkan dengan akuades hingga volume yang didapat sebanyak 100 mL.

b. Pembuatan sediaan uji minuman probiotik japelemo

Takaran formula F1, F2, dan F3 probiotik japelemo yang akan diberikan pada setiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 3.3 Formulasi F1, F2, F3 minuman probiotik japelemo

Nama Bahan	F1	F2	F3
Apel	1800 mg	1800 mg	1800 mg
Jambu biji merah	1800 mg	1800 mg	1800 mg
Melon	1800 mg	1800 mg	1800 mg
Lemon	1800 mg	1800 mg	1800 mg
Gula	80 mg	80 mg	80 mg
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	2%	-	2%
<i>Lactobacillus casei</i>	-	2%	2%

Dosis untuk manusia = 2000 mg/kgBB

Dosis untuk manusia = 2000 mg/kg x 70 kg = 140.000 mg

Konversi dosis untuk mencit BB 20 g = Dosis Lazim x Faktor Konversi = 140.000 mg x 0,0026 = 364 mg

Dosis ini diberikan dalam volume = 0,5 ml

Dibuat larutan persediaan sebanyak = 10 ml

Maka jumlah japelemo yang digunakan = 10ml/0,5 ml x 364 mg = 7280 mg = 7,28 g

Konsentrasi = 7,28g/10 mL = 72,8 g /100 mL = 72,8%

5. Pengamatan

a. Pengamatan Bobot Badan dan Bobot Pakan Harian

Mencit akan ditimbang menggunakan timbangan analitik sebelum dan sesudah diberikan perlakuan.

b. Diare

Pengamatan terjadinya diare pada mencit dilakukan dengan menempatkan/menampung feses di atas kertas saring. Lalu diamati konsistensi fesesnya. Bila jumlah air yang diserap oleh kertas saring lebih banyak dari pada kelompok normal, maka dipastikan hewan coba mengalami diare.

c. Pengukuran Karakteristik feses

Pengamatan karakteristik feses yaitu konsistensi dari feses. Konsistensi feses diamati pada menit ke-30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 setelah perlakuan dengan kriteria:

+ = feses normal (padat)

++ = feses lembek

+++ = feses berair/berlendir

d. Persentase proteksi

Metode ini dilakukan sesuai dengan penelitian oleh Zewdie, 2020 dan Adeniyi, 2017. Hewan dipuasakan selama 18 jam dan ditempatkan secara individual dalam kandang, di mana kandang dilapisi dengan kertas saring. Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 hewan. Diare diinduksi dengan pemberian 1 mL minyak jarak per oral ke setiap mencit. Setelah 30 menit (setelah mencit mengalami diare) hewan dalam kelompok yang berbeda diperlakukan sebagai berikut: kelompok I menerima 0,5 mL akuades; kelompok II, loperamid (2 mg/kg); kelompok III, minuman probiotik japelemo dengan starter *Lactobacillus acidophilus* (2000 mg/kg); kelompok IV, minuman probiotik japelemo dengan starter *Lactobacillus casei* (2000 mg/kg); dan kelompok V menerima minuman probiotik japelemo dengan starter *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus casei* (2000 mg/kg). Pengamatan dilanjutkan selama 4 jam. Waktu terjadinya diare, jumlah keluaran feses (frekuensi buang air besar) dan berat feses yang dikeluarkan oleh hewan dicatat kemudian dihitung persentase proteksi (penghambatan diare). Persentase proteksi yang dimaksud adalah berat akumulasi feses yang ditampung selama empat jam dibandingkan dengan jumlah feses pada kelompok blanko. Nilai persentase proteksi menunjukkan adanya aktivitas antidiare yang ditandai dengan penurunan frekuensi diare dibandingkan dengan kontrol. Persentase proteksi dihitung dengan rumus sebagai berikut (Zewdie, 2020):

$$\% \text{ persentase proteksi} = (\text{Berat feses basah kelompok kontrol} - \text{Berat feses basah kelompok perlakuan}) / \text{Berat feses basah kelompok kontrol} \times 100\%$$

e. Metode transit intestinal

Uji motilitas gastrointestinal dengan menggunakan arang aktif dilakukan sesuai dengan penelitian oleh Zewdie, 2020. Mencit dari

kedua jenis kelamin dipuasakan selama 18 jam dengan tetap diberikan air dan mencit diberikan perlakuan sesuai dengan kelompok masing-masing. Setelah 1 jam pemberian senyawa uji / kontrol, 0,5 mL minyak jarak diberikan secara oral. Suspensi norit 5% sebanyak 1 mL diberikan secara oral 1 jam setelah pemberian minyak jarak. Setelah 1 jam pemberian norit, hewan dikorbankan dengan dislokasi leher dan usus kecil dibedah. Panjang total yang ditutupi oleh indikator norit dari pilorus ke sekum diukur dan dihitung sebagai persentase dari total panjang usus halus. Semakin tinggi gerakan peristaltik usus, maka semakin seringpula terjadi defakasi yang ditandai dengan semakin besar pula jarak yang ditempuh oleh marker. Obat diare akan mengurangi peristaltik usus sehingga akan memperkecil rasio. Indeks Peristaltik dihitung dengan menggunakan rumus berikut (Zewdie, 2020):

6. Pengamatan Histopatologi

Pada hewan coba dilakukan pembedahan pada bagian peritoneal. Segera setelah bagian peritoneal terbuka, segera dilakukan reseksi bagian cecum. Selanjutnya dilakukan fiksasi dengan merendam jaringan dalam larutan buffered neutral formalin 10% dengan pH berkisar antara 6,5 – 7,5. pH ideal adalah 7,0. Perendaman ini berfungsi untuk mengawetkan agar jaringan terhindar dari pencernaan oleh enzim-enzim (otolisis) atau bakteri serta melindungi struktur fisik sel. Agar fiksasi jaringan dengan larutan tersebut berlangsung sempurna, maka perbandingan antrara organ dan larutan yaitu 1:10, sedangkan lamanya fiksasi minimal 2 hari. Dilakukan pengamatan histopatologi pada organ cecum yang telah diambil. Histopatologi usus digunakan untuk mengetahui kerusakan usus pada tingkat seluler. Perubahan yang diamati adalah perubahan struktur mukosa

usus. Preparasi histopatologi dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran UI.

H. Pengolahan & Analisa Data

Data yang dikumpulkan ke dalam penelitian ini merupakan data primer dari hasil pengamatan hasil uji coba baik kelompok kontrol maupun perlakuan. Data yang diperoleh merupakan data kuantitatif yaitu seperti dengan melihat frekuensi defekasi, berat feses, konsistensi feses, pemeriksaan histopatologi usus. *Analysis of variance* (ANOVA) adalah bagian dari metode analisis statistika yang tergolong analisis komparatif lebih dari dua rata-rata. Pada penelitian ini menggunakan anova *one way* atau satu arah yaitu analisis yang hanya melibatkan satu peubah arah secara bebas. Tujuan dari uji anova *one way* adalah untuk membandingkan lebih dari dua rata-rata (Setiawan, 2019). Analisis data ANOVA *one way* akan diuji dengan menggunakan SPSS versi 25.

I. Etika Penelitian

Menurut Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan (2018), etika pada penelitian bermaksud untuk membantu peneliti untuk melihat secara kritis dari pandangan subyek penelitian. Peneliti harus menerapkan sikap ilmiah dan menerapkan prinsip yang terdapat pada etika penelitian, diantaranya adalah :

1. Menghormati dan menghargai subjek
2. Mempertimbangkan kemungkinan terhadap bahaya dan penyalahgunaan penelitian
3. Diperlukan perlindungan pada subjek yang rentan terhadap bahaya peneliti

BAB IV

HASIL & PEMBAHASAN

Diare adalah suatu keadaan yang ditandai pengeluaran feses cair atau seperti bubur berulang kali (lebih dari 3 kali sehari) dengan peningkatan konsistensi feses yang encer yang disebabkan oleh peningkatan motilitas usus karena infeksi bakteri dan berbagai hal lainnya sehingga parameter yang diambil adalah konsistensi feses, frekuensi feses, berat feses dan kemampuan ekstrak simplisia uji untuk memberikan hambatan terhadap bakteri yang digunakan. Konsistensi feses perlu dilihat untuk mengetahui kemampuan zat uji untuk menurunkan konsistensi feses dengan menurunkan pengeluaran cairan tubuh. Frekuensi defekasi dan transit usus diperlukan untuk melihat kemampuan zat uji dalam menurunkan frekuensi defekasi yang dapat dilihat, berat feses menggambarkan jumlah masa feses yang dikeluarkan.

Penggunaan *Oleum ricini* untuk penginduksi diare pada hewan percobaan dalam penelitian ini adalah karena *Oleum ricini* mengandung trigliserida dari asam ricinoleat yang dihidrolisis dalam usus oleh enzim lipase pancreas menjadi gliserin dan asam ricinoleat sebagai surfaktan anionic, zat ini bekerja mengurangi absorpsi cairan dan elektrolit serta menstimulasi peristaltik usus.

Pemilihan loperamid sebagai pembanding karena loperamid dapat memperlambat motilitas intestinal sehingga mampu memperpanjang waktu transit intestinal, menurunkan frekuensi defekasi, meningkatkan viskositas feses, dan mencegah kehilangan cairan dan elektrolit. Bakteri tertentu juga dapat menimbulkan diare sehingga perlu dilakukan pengukuran aktivitas antimikroba.

Adapun pengaruh pemberian minuman probiotik japalemo terhadap mencit jantan BalB c selama lima jam pengamatan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Bobot badan dan bobot feses

Kelompok	bobot badan (gram)		berat feses basah selama 5 jam
	sebelum	sesudah	
P1	19,8	19,1	0,39
P2	24,2	22,43	0,19
P3	24,8	22,6	0,23
P4	25,6	23,13	0,23
P5	26,4	24,24	0,67

Berdasarkan **tabel 1**. Terlihat bahwa bobot feses selama 5 jam pengamatan menghasilkan perbedaan antara kelima kelompok perlakuan. Kelompok P5 merupakan kelompok aqudest dengan bobot feses paling besar, sedangkan kelompok P2 atau Loperamid menghasilkan bobot feses paling kecil. Berdasarkan hasil uji ANNOVA ($p > 0.01$) terdapat perbedaan bobot feses secara nyata setelah pengamatan 5 jam. Adapun kemampuan proteksi antar kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 2

Tabel 2. Persentase proteksi setelah pengamatan 5 jam

Perlakuan	% proteksi					Rata-rata
	I	II	III	IV	V	
P1 (Akuades)	0	0	0	0	0	0
P2 (Loperamid)	-18%	9%	16%	8%	16%	12,25%
P3 (Japalemo <i>L. acidhopillus</i>)	-38%	23%	29%	-26%	92%	48%
P4 (Japalemo <i>L. plantarum</i>)	-29%	22%	26%	21%	82%	37,75%
P5 (Japalemo <i>L. acidhopillus</i> + <i>plantarum</i>)	-95%	-63%	24%	-91%	82%	53%

Berdasarkan tabel 2 dapat diketahui bahwa nilai rata –rata persentase kemampuan proteksi dari setiap perlakuan pada mencit yang mengalami diare secara berurutan adalah untuk akuades sebesar 0 % atau tidak menghasilkan kemampuan proteksi, Loperamid sebesar 12,25%, Japalemo (*L. acidhopillus*) sebesar 48 %, Japalemo (*L. plantarum*) sebesar 37,75%, Japalemo kombinasi *L. acidhopillus* dan *L. plantarum* sebesar 53%. Adapun proteksi tertinggi untuk diare dihasilkan oleh perlakuan japalemo kombinasi *L. acidhopillus* dan *L. plantarum*.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Rachmawati (2016) yang menunjukkan bahwa probiotik multispecies memiliki aktivitas antidiare tertinggi yang ditunjukkan dengan persentase proteksi tertinggi. Berdasarkan konsistensi feses kelompok probiotik multispecies menunjukkan perbaikan konsistensi feses dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa pemberian minuman probiotik buah sirsak gunung 0,30 ml/KgBB efektif dalam menghambat diare yang disebabkan bakteri *E. coli* (Putri, 2017). Penelitian Khurniati dan Fidyasari (2018) menunjukkan dosis 0,676 mL/kgBB minuman probiotik sari buah sirsak gunung memiliki aktivitas menunjukkan aktivitas antidiare yang disebabkan oleh *Salmonella thypii*.

Menurut Yufariani (2022) minuman probiotik mampu berperan sebagai antibakteri dengan cara menghasilkan protease yang menurunkan toksin bakteri patogen dan meningkatkan sistem imun. Sriwahyuni (2017) menambahkan keberhasilan probiotik multispecies disebabkan bakteri probiotik mampu membentuk kolonisasi yang efektif sehingga menghambat diare pada mencit. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Bintoro (2002) yang menyatakan bahwa bakteri asam laktat dapat hidup dan tumbuh di dalam saluran pencernaan. Bakteri asam laktat menghasilkan asam organik, senyawa antibiotika, enzim dan bakteriosin yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen di dalam usus. Aktivitas dan produk metabolit yang dihasilkan bakteri asam laktat selama hidup di dalam saluran pencernaan dapat merangsang aktivitas sistem kekebalan tubuh.

Pemberian *Lactobacillus acidophilus* mampu meningkatkan aktivitas sistem kekebalan tubuh, ditandai dengan meningkatnya jumlah leukosit, limfosit, neutrofil, indek fagositik dan nilai titer antibodi. Jepi (2011) menyatakan bahwa bakteri probiotik dapat memperkuat sistem imun karena adanya bantuan mukus. Melekatnya probiotik pada mukus ini ternyata diakibatkan oleh suatu zat protein yang dimiliki oleh probiotik tersebut. Zat tersebut dinamakan “mucus-binding protein” (protein pengikat mukus), yang ternyata dijumpai dalam jumlah yang lebih banyak pada

bakteri penghasil asam laktat, dengan adanya protein ini maka bakteri probiotik dapat menempel pada mukus saluran cerna dan melakukan interaksi dengan host.. “Mucus-binding protein” mengenal protein imunoglobulin manusia yang merupakan bagian dari sistem imunan beberapa jenis bakteri asam laktat, seperti *Lactobacillus casei*, dapat meningkatkan respon imun sistemik yang mampu bertindak sebagai immunomodulators (Perdigon *et al.*, 2020).

Usus merupakan organ dengan sistem imun terluas di tubuh, sel-sel yang menyusun usus dilindungi oleh lapisan pelindung mukus yang secara terus-menerus mengalami proses regenerasi. Selain melindungi, ternyata mukus ini juga memberikan keuntungan bagi bakteri probiotik yaitu menjadi media melekatnya probiotik di dinding usus. Melekatnya probiotik pada mukus ini ternyata diakibatkan oleh suatu zat proteinyang dimiliki oleh probiotik tersebut, dari hasil penelitian diselidiki lebih jauh pada probiotik *Lactobacillus reuteri*. Zat tersebut dinamakan mucus-binding protein (protein pengikat mukus), yang ternyata dijumpai dalam jumlah yang lebih banyak pada bakteri penghasil asam laktat, dengan adanya protein ini maka bakteriprobiotik dapat menempel pada mukus saluran cerna dan melakukan interaksi dengan *host*. Mucus-binding protein ini juga mengenal protein imunoglobulin yang merupakan bagian dari sistem imun, oleh karena itu peranan mucus binding protein ini tampaknya akan lebih luas lagi selain sebagai media perlekatan probiotik pada dinding saluran cerna. Pemberian *Lactobacillus acidophilus* pada mencit yang diberi EPEC mempengaruhi sifat immunomodulator yaitu meningkatkan jumlah imunoglobulin. Bakteri Asam Laktat (BAL) *Lactobacillus acidophilus* dan *plantarum* memiliki potensi sebagai antidiare dan meningkatkan sistem imun (immunomodulator).

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian produk inovasi probiotik japaleom (jambu biji, apel, melon, dan lemon) dengan konsentrasi 2000 mg/KgBB mencit Balb/C mampu menghasilkan sifat antidiare. Adapun kemampuan antidiare ditunjukkan dengan persentase proteksi untuk Japalemo (*L.acidhopillus*) sebesar 48 %, Japalemo (*L. plantarum*) sebesar 37,75%, Japalemo kombinasi *L.acidhopillus* dan *L. plantarum* sebesar 53%. Hasil proteksi diare terbaik dihasilkan probiotik Japalemo kombinasi *L.acidhopillus* dan *L. plantarum* sebesar 53%.

B. Saran

Perlu dilakukan pembuatan preparat histologi jaringan usus untuk melihat kondisi usus yang terkena diare dan pasca diare

DAFTAR PUSTAKA

- Adeniyi, O. S., Omale, J., Omeje, S. C., & Edino, V. O. (2017). Antidiarrheal activity of hexane extract of Citrus limon peel in an experimental animal model. *Journal of integrative medicine*, 15(2), 158–164. [https://doi.org/10.1016/S2095-4964\(17\)60327-3](https://doi.org/10.1016/S2095-4964(17)60327-3).
- Akhondi H, Simonsen KA. Bacterial Diarrhea. [Updated 2022 Aug 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551643/>.
- Al-Gizar, M., Yusuf, M., Rorrong, Y., Badaring, D., Aswanti, H., Nurazizah, Ahyar, M., Wulan, W., Putri, M., & Arisma, W. (2022). *teknik manajemen dan pengelolaan hewan percobaan*. Penerbit Jurusan Biologi FMIPA UNM.
- At Thobari, J., Sutarman, Mulyadi, A. W. E., Watts, E., Carvalho, N., Debellut, F., Clark, A., Soenarto, Y., & Bines, J. E. (2021). Direct and indirect costs of acute diarrhea in children under five years of age in Indonesia: Health facilities and community survey. *The Lancet regional health. Western Pacific*, 19, 100333. <https://doi.org/10.1016/j.lanwpc.2021.100333>.
- Barbara G. Wells, Joseph T. DiPiro, Terry L. Schwinghammer, Cecily V. DiPiro. (2015). *Pharmacotherapy Handbook*. Ninth Edition. New York: McGraw-Hill Education.
- BPOM RI. (2020). peraturan badan pengawas obat dan makanan tentang pedoman uji toksisitas praklinik secara in vivo. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 21–25. <http://www.elsevier.com/locate/scp>
- Cempaka, A. R., Sanarto, S., Laksmi, K.T. (2014). Pengaruh Metode Pengolahan (Juicing dan Blending) Terhadap Kandungan Quercetin Berbagai Varietas Apel Lokal dan Impor (Malus domestica). *Indonesian Journal of Human Nutrition*, Juni 2014, Volume 1 Edisi 1 : 14 – 22.
- Darvishpour, S., Avan, R., Azadbakht, M., Maham, M., Akbari, J., Janbabaie, G., Zaboli, E., Amirabadizadeh, A. R., & Salehifar, E. (2021). *Malus domestica* reduces chemotherapy-induced nausea and vomiting: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 26, 72. https://doi.org/10.4103/jrms.JRMS_833_20.

- European Medicines Agency. (2016). *Assessment report on Ricinus communis L., oleum*. United Kingdom: An agency of the European Union.
- Fauziah, A. R., Bahar, M., & Wulandari, A. A. (2019). *salmonella spp : an in vitro study*. 8(2), 54–63. <https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v8i2.165>
- Fauzi, R., Annisa Fatmawati, dan Emelda. (2020). Efek Anti diare Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera L.*) Pada Mencit Putih Jantan. *Pharmaceutical Journal of Indonesia* 2020. 6(1):35-39.
- Fitri, Rachmawati. (2016). *Efek Antidiare Berbagai Komposisi Probiotik pada Mencit yang Diinduksi Diare*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Iswandi, Indang Dewata. (2020). *Pengelolaan Sumber Daya Alam*. Sleman: Deepublish Publisher.
- Koto-Te-Nyiwa Jean-Paul Ngbolua, et al. (2018). A review on the Phytochemistry and Pharmacology of *Psidium guajava L.* (Myrtaceae) and Future direction. *Discovery Phytomedicine* 2018, Volume 5, Number 2: 7-13.
- Kumar, M., Tomar, M., Amarowicz, R., Saurabh, V., Nair, M. S., Maheshwari, C., Sasi, M., Prajapati, U., Hasan, M., Singh, S., Changan, S., Prajapat, R. K., Berwal, M. K., & Satankar, V. (2021). Guava (*Psidium guajava L.*) Leaves: Nutritional Composition, Phytochemical Profile, and Health-Promoting Bioactivities. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(4), 752. <https://doi.org/10.3390/foods10040752>.
- García, Ricardo Gómez, Débora, A. Campos, Cristóbal N. Aguilar, Ana R. Madureira, Manuela Pintado. (2020). Valorization of melon fruit (*Cucumis melo L.*) by-products: Phytochemical and Biofunctional properties with Emphasis on Recent Trends and Advances. *Trends in Food Science & Technology*. Volume 99, May 2020, Pages 507-519.
- Gupta, P., & Birdi, T. (2015). *Psidium guajava* leaf extract prevents intestinal colonization of *Citrobacter rodentium* in the mouse model. *Journal of Ayurveda and integrative medicine*, 6(1), 50–52. <https://doi.org/10.4103/0975-9476.146557>.
- Hill, D., Sugrue, I., Tobin, C., Hill, C., Stanton, C., & Ross, R. P. (2018). The *Lactobacillus casei* Group: History and Health Related Applications. *Frontiers in microbiology*, 9, 2107. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02107>.

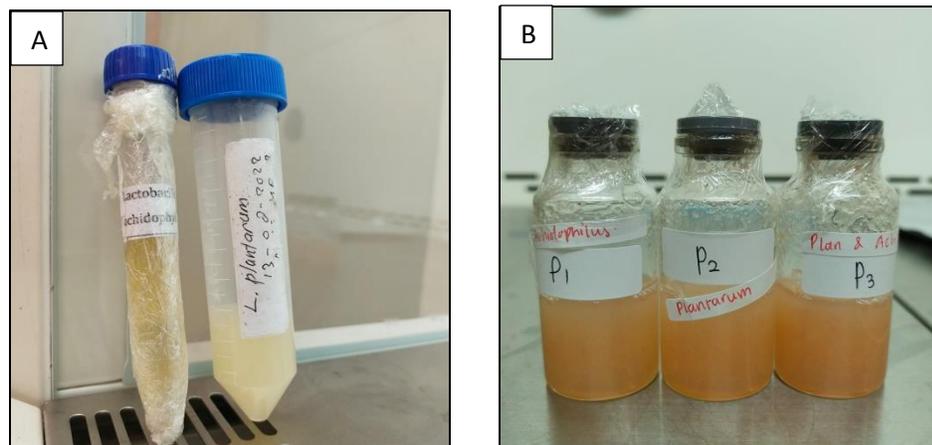
- Kemenkes RI. (2016). Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 6 Tahun 2016 Tentang Formularium Obat Herbal Asli Indonesia. Jakarta: Kemenkes RI.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2019. *Laporan Nasional Riskesdas 2018*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Ni, H., Martínez, Y., Guan, G., Rodríguez, R., Más, D., Peng, H., Valdivié Navarro, M., & Liu, G. (2016). Analysis of the Impact of Isoquinoline Alkaloids, Derived from *Macleaya cordata* Extract, on the Development and Innate Immune Response in Swine and Poultry. *BioMed research international*, 2016, 1352146. <https://doi.org/10.1155/2016/1352146>.
- Nugroho, R. A. (2018). *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium* (A. K. Hafitsz (ed.)). Mulawarman University Press.
- Nurhalimah, S. (2018). *pengaruh ekstrak etanol umbi bawang putih (allium sativum) pada pertumbuhan bakteri probiotik lactobacillus casei secara in vitro*.
- Pandango, Glabela Christiana., Ramadhani R. B., Irfiansyah Irwadi. (2018). The Effect of Sapodilla Leaves (Achras Zapota) Infusum towards Mice (Mus Muculus) Diarrheal Activity Induced by Oleum Ricini. *BIOMOLECULAR AND HEALTH SCIENCE JOURNAL* 2018 APRIL VOL 1 (01).
- Pramudita, N. S., Sulistiyanti, A., Hanifah, L., Merah, J. B., & Putri, R. (2022). Pengaruh Konsumsi Jambu Biji Merah (Psidium Guajava L .) terhadap peningkatan kadar haemoglobin pada remaja putri. *Prosiding Seminar Informasi Kesehatan Nasional (SIKESNas)*, 415–421. <https://ojs.uib.ac.id/index.php/sikenas/article/view/2089/1647>.
- Rukmana, A., Supardi, L. A., Sjatha, F., & Nurfadilah, M. (2022). Responses of Humoral and Cellular Immune Mediators in BALB/c Mice to LipX (PE11) as Seed Tuberculosis Vaccine Candidates. *Genes*, 13(11), 1954. <https://doi.org/10.3390/genes13111954>.
- Setiawan, K. (2019). buku ajar metodologi penelitian (anova one way). In *Jutusan Argonomi Dan Hortikultura Fakultas Pertanian Universitas Lampung*. www.penapersada.com.
- Setiawan, A. (2022). Keanekaragaman Hayati Indonesia: Masalah dan Upaya Konservasinya. *Indonesian Journal of Conservation*. 11(1).13-21.

- Srivastava, S., Snigdh, B., Solomon, D., Pradeep, K., Debashree, S. (2022). Rural-urban differentials in the prevalence of diarrhoea among older adults in India: Evidence from Longitudinal Ageing Study in India, 2017–18. PLOS ONE. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265040>.
- Stevani, H. (2106). Modul Bahan Ajar Cetak Farmasi Praktikum Farmakologi. Jakarta: Kemenkes RI.
- Sumaryati, S. (2017). *Bioteknologi Dasar Dan Bakteri Asam Laktat Mikrobial*.
- Xin Guo, Jing Wang, Ruiyan Niu, Rui Li, Jixiang Wang, Xinfeng Fan, Xiaowen Wang, Zilong Sun, Effects of apple juice fermented with *Lactobacillus plantarum* CICC21809 on antibiotic-associated diarrhea of mice, *Journal of Functional Foods*, Volume 99, 2022, 105334.
- Yulia, N., Wibowo, A., & Kosasih, E. D. (2020). karakteristik minuman probiotik sari ubi kayu dari kultur bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus*. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 10(2), 87–94. <https://doi.org/10.22435/jki.v10i2.2488>.
- Wahid, M., Saqib, F., Ali, A., Alshammari, A., Alharbi, M., Rauf, A., & Mubarak, M. S. (2022). Integrated Mechanisms of Polarity-Based Extracts of *Cucumis melo* L. Seed Kernels for Airway Smooth Muscle Relaxation via Key Signaling Pathways Based on WGCNA, In Vivo, and In Vitro Analyses. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 15(12), 1522. <https://doi.org/10.3390/ph15121522>.
- Wansi, S.L. et al., 2014. Antidiarrheal Activity of Aqueous Extract of the Stem Bark of *Sapium Ellipticum* (Euphorbiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 13(June), pp.929–935.
- World Health Organization. (2017). *Diarrhoeal disease*. World Health Organization.
- Zewdie, K. A., Bhoumik, D., Wondafrash, D. Z., & Tuem, K. B. (2020). Evaluation of in-vivo antidiarrhoeal and in-vitro antibacterial activities of the root extract of *Brucea antidysenterica* J. F. Mill (Simaroubaceae). *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1), 201. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03001-7>.
- Zewdie, K. A., Bhoumik, D., Wondafrash, D. Z., & Tuem, K. B. (2020). Evaluation of in-vivo antidiarrhoeal and in-vitro antibacterial activities of the root extract of *Brucea antidysenterica* J. F. Mill (Simaroubaceae). *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1), 201. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03001-7>.

LAMPIRAN



Gambar 1. Mencit yang mengalami diare setelah diberi perlakuan *Oleum ricini*



Gambar 2. A. biakan cair *L.achidophilus* dan *plantarum*. B. probiotik jalembi

