

## **Sinbiotik Ekstrak Ubi Ungu dan Probiotik Lokal pada Yogurt: Kesehatan Pencernaan, Hematologi, dan Sistem Imun**

Synbiotic Purple Sweet Potato Extract and Local Probiotics on Yogurt: Digestive Tract Health, Hematology, and Immune System

**Agustina Intan Niken Tari\***, Catur Budi Handayani, Sri Hartati

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Veteran Bangun Nusantara, Jl. Letjens S. Humardani, Jombor No. 1 Sukokarjo 57521, Indonesia

\*Penulis korespondensi: Agustina Intan Niken Tari, *E-mail*: intanniken@gmail.com

Tanggal submisi: 30 Oktober 2017; Tanggal penerimaan: 8 April 2020

### **ABSTRAK**

Faktor penting dalam mendukung kesehatan tubuh antara lain ditentukan oleh bakteri yang ada dalam saluran cerna. Oleh sebab itu keseimbangan populasi bakteri dalam saluran cerna harus dijaga. Salah satu upaya yang dilakukan antara lain dengan konsumsi yogurt sinbiotik berbasis probiotik lokal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efektivitas sinbiotik ekstrak ubi ungu dan probiotik lokal yang disuplementasikan pada yogurt melalui gambaran kesehatan. Parameter kesehatan yang diamati meliputi kesehatan saluran cerna (kadar air feses), hematologi (jumlah eritrosit, leukosit, hemoglobin dan hematokrit) serta sistem imun (titer antibodi) pada tikus albino *Sprague dawley*. Penelitian dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap menggunakan 30 ekor tikus yang dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok K - = Tikus diberi aquades dari hari ke 1 sampai ke-21, YTP = Tikus diberi yogurt tanpa probiotik sejak hari ke 1 sampai 21, YDP = Tikus diberi yogurt probiotik dari hari ke 1 sampai 21, YTP + E = tikus diberi yogurt tanpa Probiotik dari hari ke 1 sampai 21, diselingi *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) pada hari ke 8 - 14, YDP + E = Tikus diberi yogurt probiotik dari hari ke1 sampai 21, diselingi EPEC pada hari ke 8-14, K + = Tikus diberi aquades dari hari ke 1 sampai 21, kemudian diseling dicekok EPEC pada hari ke 8-14. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan yogurt probiotik dengan suplementasi ekstrak ubi jalar ungu efektif terhadap kesehatan saluran pencernaan (kadar air feses), hematologi (jumlah eritrosit, leukosit, hemoglobin dan hematokrit) dan sistem imun (titer antibodi) akibat infeksi EPEC (*Enteropathogenic Escherichia coli*) penyebab diare. Perlakuan YDP memiliki kadar air feses 48,42%, jumlah eritrosit, leukosit, hemoglobin dan hematokrit masing-masing adalah 8,58  $10^6/\mu\text{l}$ , 14,14 $\times 10^6/\mu\text{l}$ , 13,98 g/dL dan 47,67 mL %. Titer antibodi adalah 6,42 log titer antibodi.

**Kata kunci:** Pencernaan; hematologi; imun; sinbiotik; yogurt

### **ABSTRACT**

Important factors in supporting the health of the body, among others, is determined by bacteria in the gastrointestinal tract. Therefore, the balance of bacterial population in the gastrointestinal tract should be maintained. One of the efforts done is by consumption of local probiotic-based sinbiotic yoghurt. The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of purple sweet potato extracts and local probiotics that were supplemented in yogurt by healthy profile. Healthy parameters observed include gastrointestinal (faecal water), hematology (number of erythosit, leukocyte, hemoglobin and hemtocrit) and immune system (antibody titer) in Sprague dawley albino mice. The study was conducted with a Completely Randomized Design with 30 rats divided into 6 groups. Group K- rats were given distilled water from day 1<sup>st</sup> -21<sup>st</sup>, YTP = Rats were given yogurt without probiotics from day 1<sup>st</sup> -21<sup>st</sup>, YDP = rats were given probiotic yogurt from day 1<sup>st</sup> - 21<sup>st</sup>, YTP+E = rats were given yogurt without probiotic from day 1<sup>st</sup> - 21<sup>st</sup>, interspersed EPEC on day 8<sup>th</sup> - 14<sup>th</sup>, YDP+E = Rats were given probiotic yogurt from

day 1<sup>st</sup>- 21<sup>st</sup>, interspersed EPEC on day 8<sup>th</sup>-14<sup>th</sup>, K + = Rats were given water from day 1<sup>st</sup>- 21<sup>st</sup> interspersed EPEC on day 8<sup>th</sup> - 14<sup>th</sup>, YDP+E = Rats were given probiotic yogurt from day 1<sup>st</sup>- 21<sup>st</sup>, then fed EPEC on day 8<sup>th</sup>- 14<sup>th</sup>. The results showed that probiotic yogurt treatment with purple sweet potato extract supplementation effective for healthy ie gastrointestinal (faecal water), hematology (number of erythrocyte, leukocyte, hemoglobin and hematocrit) and immune system (titre antibodies) due to infection of EPEC (*Enteropathogenic Escherichia coli*) causes diarrhea. The YDP treatment has a water content of feces 48.42%, the number of erythrocytes, leucocytes, haemoglobin and hematocrit were 8,58x10<sup>6</sup>/μl, 14,15 x10<sup>6</sup>/ μl, 13.98 g / dL and 47,67 mL%, respectively. The antibody titer is 6,42 log of antibody titers

**Keywords:** Digestive; hematology; immune; synbiotic; yogurt

## PENDAHULUAN

Saluran cerna merupakan organ imunitas terbesar dan memiliki berbagai fungsi. Saluran cerna yang sehat merupakan salah satu kunci penting yang menentukan kualitas kesehatan seseorang, terutama penyakit-penyakit yang berhubungan dengan saluran pencernaan seperti diare.

Diare merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang kompleks. Diare dapat mempengaruhi pertahanan tubuh penderita. Penyebab diare terbesar adalah infeksi dan intoksikasi (*poisoning*). Di berbagai negara berkembang termasuk Indonesia, penyakit diare masih menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang penting karena merupakan penyumbang utama ketiga morbiditas dan mortalitas anak. Diare merupakan penyebab 3,2 juta morbiditas dan mortalitas balita per tahun (Haryono, 2012). Berdasarkan data WHO (2010) pada *Weekly Morbidity and Mortality Report* (WMMR), dilaporkan bahwa pada minggu ke-22 (29 Mei-4 Juni 2010) dari semua jumlah kunjungan pasien, 12% diantaranya adalah kasus penyakit diare dan dari semua jumlah kunjungan pasien, 23% diantaranya adalah balita, dan yang menderita penyakit diare adalah 9% dari semua jumlah kunjungan pasien balita.

Konsumsi bakteri probiotik bermanfaat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan mempunyai efek kesehatan bagi inang (*host*) baik pada manusia maupun hewan coba seperti tikus. Pencegahan dan pengobatan infeksi bakteri dengan probiotik adalah bidang yang menarik dari penelitian biomedis saat ini. Strain *Lactobacillus* dengan potensi probiotik digunakan dalam industri makanan dan juga digunakan sebagai agen bioterapi (Verma dkk., 2010).

Jumlah minimal sel probiotik yang dapat memberikan efek kesehatan masih kontroversial. Viabilitas sel bakteri dalam produk probiotik harus berkisar antara 10<sup>7</sup>-10<sup>9</sup> cfu/g (Adib dkk., 2013), namun demikian, jumlah tersebut sebetulnya sangat tergantung dari jenis makanan dan strain yang digunakan. Beberapa peneliti juga melaporkan bahwa

mengonsumsi bakteri asam laktat (BAL) golongan *Lactobacillus* mampu meningkatkan sistem imun seluler dan humoral. Penelitian oleh Nuraida dkk., (2012) menunjukkan bahwa Empat isolat probiotik asal ASI dapat menurunkan jumlah *E. coli* pada sekum, meningkatkan jumlah total bakteri asam laktat tanpa adanya potensi invasi, menginduksi sekresi IgA pada tikus coba. Penelitian lain oleh Astawan dkk. (2012), menjelaskan bahwa pemberian yoghurt sinbiotik yang dibuat menggunakan *Lactobacillus acidophilus* 2B4 sebagai salah satu starter, secara sangat nyata dapat menurunkan nilai leukosit, trombosit dan hematokrit tikus percobaan.

*Lactobacillus plantarum* merupakan bakteri yang bersifat mikro aerotoleran yang dapat tumbuh pada suhu 15°C, tetapi tidak dapat tumbuh pada suhu 45 °C (Lorenzo dkk., 2018). Beberapa isolat lokal bakteri asam laktat yang telah berhasil diisolasi dan mempunyai sifat probiotik antara lain *Lactobacillus plantarum* Mut 7 yang diisolasi dari makanan fermentasi ketela (gatot), *Lactobacillus acidophilus* SNP-2 yang diisolasi dari feses bayi yang mengonsumsi ASI (air susu ibu) dan telah diupdate menjadi *Lactobacillus paracasei* SNP-2 (Rahayu dkk., 2016) serta *Lactobacillus plantarum* Dad 13 yang diisolasi dari susu fermentasi kerbau (dadih) dan direkonfirmasi serta diidentifikasi secara molekuler oleh (Rahayu dkk., 2016). Hasil penelitian oleh Sumaryati, dkk. (2009) menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* Dad 13 merupakan salah satu strain bakteri asam laktat yang mampu menurunkan kolesterol, dan kadar laktosa yogurt, relatif tahan pada pH 3,0 dan dapat hidup dan tumbuh pada kadar garam Empedu 0,5%. Dilaporkan pula oleh Utami dkk. (2014) bahwa konsumsi *Lactobacillus plantarum* Dad 13 dan dibarengi inulin meningkatkan konsentrasi SCFA (*Short Chain Fatty Acid*) pada fekal tikus coba. Penelitian oleh Sumaryati dkk. (2009) menunjukkan bahwa pemberian *Lactobacillus plantarum* Dad 13 secara in vitro tidak dapat menurunkan *E. coli* dan *coliform*, namun dapat meningkatkan jumlah *lactobacilli* sebesar 1,2 siklus log. Penelitian oleh Rahayu dkk. (2011), menunjukkan

bahwa *Lactobacillus plantarum* Dad 13 dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen, seperti *Shigella dysenteriae* dky-4, dua strain *Escherichia coli* patogen dky-1 dan dky-2, dan *Salmonella typhimurium* dky-3. Strain ini juga tahan terhadap garam bile (diatas 3%), tahan terhadap cairan lambung pada pH 2,0-3,0 selama 6 hari.

Yogurt sinbiotik merupakan salah satu produk fermentasi yang dibuat dengan menggunakan campuran beberapa kultur bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus plantarum* Dad 13 yang telah diketahui bersifat probiotik, dikombinasikan dengan prebiotik seperti oligosakarida pada ubi jalar ungu. Kombinasi ini dapat meningkatkan daya tahan bakteri probiotik, karena substrat yang spesifik telah tersedia untuk fermentasi, sehingga tubuh inang memperoleh manfaat dari kombinasi ini.

Tari dkk. (2013) melaporkan bahwa yogurt dengan suplementasi ekstrak ubi jalar ungu menggunakan kultur komersial dan probiotik indigenus, yaitu *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040, *Lactobacillus bulgaricus* FNCC0041 dan *Lactobacillus plantarum* Dad 13 dengan perbandingan 1:1:0,5 tealah dapat dibuat, dan mempunyai sifat fisik (pH =3,78, viskositas = 5,20 cP, warna kromatik =18,56), sifat kimia (kadar asam tertitrasi 1,27%, kadar air 85, 27%, kadar abu 0,80%, kadar gula reduksi 3,338%, kadar protein terlarut 1,48%, kadar lemak 0,08% dan kadar antosianin 8,53%). Pada penelitian tersebut viabilitas total Bakteri Asam Laktat (BAL) sebagai starter yang terdiri dari *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Lactobacillus plantarum* Dad 13 selama 2 minggu penyimpanan adalah  $1,65 \cdot 10^9$  CFU/mL. Tari dkk. (2016) juga melaporkan bahwa probiotik indigenus, yaitu *Lactobacillus plantarum* Dad 13 yang disuplementasikan pada yogurt ekstrak ubi jalar ungu mampu menurunkan radikal bebas yang ditunjukkan dengan menurunnya kadar MDA darah dari 4,23 mmol/mL menjadi 1,52 mmol/mL dan kadar MDA hati hewan coba pada akhir penelitian dari 5,60 mmol/mL menjadi 2,96 mmol/mL. Pada penelitian ini viabilitas total Bakteri Asam Laktat (BAL) sebagai starter yang terdiri dari *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, dan *Lactobacillus plantarum* Dad 13 adalah  $3,18 \times 10^9$  CFU/mL.

Menurut Zhou dkk. (2012), dewasa ini telah mulai dikembangkan terapi bakteri probiotik yang diberikan secara oral. Terapi ini mempunyai kemampuan mempengaruhi sistem metabolisme tubuh pada inang (*host*) baik pada manusia maupun hewan coba. Berdasarkan hasil penelitiannya, ternyata *Lactobacillus plantarum* memiliki kemampuan untuk mencegah translokasi bakteri dan memperbaiki fungsi *barrier*

usus. Aboderin dan Oyeatayo (2006), menyatakan bahwa salah satu kemampuan probiotik dalam sistem metabolisme tubuh adalah status hematologi atau fungsi darah. Darah merupakan komponen yang sangat penting karena berfungsi mengedarkan substansi yang masuk ke dalam tubuh maupun yang dihasilkan tubuh dari proses metabolisme. Fungsi darah dapat terganggu bila parameter darah (seperti jumlah eritrosit, leukosit, dan hemoglobin) tidak normal. Hal ini mengakibatkan terjadinya gangguan dan fungsi darah, sehingga dapat mempengaruhi fungsi organ lainnya. Nilai hematologi (profil darah) berguna untuk menilai kondisi kesehatan dan sebagai acuan awal (*baseline*) atau kontrol dalam penelitian. Status kesehatan saluran pencernaan, selain dapat dilihat dari status hematologi, dapat juga diamati dari kadar air feses, yang kesemuanya berkaitan erat dengan kondisi daya tahan tubuh yang baik

Belum diketahui gambaran hematologi probiotik indigenus (lokal) dalam menekan pertumbuhan EPEC ATCC 35218, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efektivitas sinbiotik ekstrak ubi ungu dan probiotik lokal yang disuplementasikan pada yogurt melalui gambaran kesehatan saluran cerna, hematologi dan sistem imun secara *in vivo* menggunakan hewan coba tikus putih albino Norway rats (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan yang digunakan terdiri atas kultur bakteri asam laktat koleksi FNCC (*Food and Nutrition Culture Collection*) dari Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta yaitu *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040, *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0041, kultur BAL indigenus probiotik *Lactobacillus plantarum* Dad 13 dari tim peneliti UGM, Enteropathogeninc *Escherichia coli* (EPEC) ATCC 35218 dari Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta.

Media MRS (de Mann Rogossa Sharp) Agar/ Broth (Oxoid/Amerika), untuk pemeliharaan kultur bakteri asam laktat, media Nutrient Broth (Merck/ Jerman) untuk pertumbuhan EPEC ATCC 35218. Media LPSM (*Lactobacillus plantarum* Slective Media) Agar/ Broth (Merck/Jerman) untuk enumerasi *Lactobacillus plantarum* Dad13. Bahan kimia penunjang: alkohol 70%, spiritus, dan aquades.

### Alat

Peralatan yang digunakan antara lain peralatan gelas (tabung reaksi, gelas Beaker, Erlenmeyer, dan petridish), *autoclave* (All America A-500, USA), inkubator

(Inko S-100, Jepang), Oven (Binder B-100, Jepang), dan entkas.

### **Pembuatan Starter Yogurt Sinbiotik dengan Suplementasi Ekstrak Ubi Jalar Ungu dan Probiotik Lokal**

Pembuatan starter dilakukan dengan menyiapkan 5 mL medium MRS broth steril sebanyak 3 tabung, kemudian masing-masing tabung diinokulasi dengan biakan tegak *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0041, *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040, *Lactobacillus plantarum* Dad 13. Semua isolat diinkubasi pada suhu 36 °C selama 24 jam. Pembuatan kultur starter dilakukan dengan cara memipet masing-masing 0,1 mL biakan tersebut, kemudian menginokulasikan ke dalam 5 mL susu skim steril. Populasi bakteri probiotik berupa *Lactobacillus plantarum* Dad 13 tidak dapat tumbuh pada suhu 45 °C, sehingga untuk pembuatan kultur starter yogurt, inkubasi dilakukan pada suhu 37 °C, selama 24 jam. Bakteri ini juga dimasukkan ke susu dengan populasi separuhnya (0,5) bagian dari bakteri-bakteri lainnya yaitu *Streptococcus thermophyllus* dan *Lactobacillus bulgaricus*.

### **Pembuatan Yogurt Sinbiotik dengan Suplementasi Ekstrak Ubi Jalar Ungu dan Probiotik Lokal**

Susu segar sebanyak 500 mL, susu skim (5% b/v) dan ekstrak ubi jalar ungu (10% v/v) dipasteurisasi pada suhu 72 °C selama 15 menit, kemudian didinginkan sampai suhu 40-45 °C. Selanjutnya, diinokulasi menggunakan *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* serta bakteri probiotik indigenus dengan perbandingan 1 : 1 : 0,5 secara aseptis sebanyak 5% (v/v), kemudian dikocok hingga homogen. dan diinkubasi pada suhu 43 °C selama 8 jam, atau pada suhu 37 °C selama 20 jam sehingga dihasilkan yogurt ekstrak ubi jalar ungu.

### **Populasi Starter Bakteri Asam Laktat sebagai Starter Yogurt**

Sebelum dicekokkan ke hewan coba, telah dilakukan enumerasi terhadap total bakteri asam laktat (BAL) yang terdiri dari *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, dan *Lactobacillus plantarum* Dad 13, menggunakan media MRS (Mann Rogosa Sharp) dan populasi *Lactobacillus plantarum* Dad 13 menggunakan media LPSM (*Lactobacillus plantarum* Selective Media) untuk memastikan populasi *Lactobacillus plantarum* Dad 13, mengingat *Lactobacillus plantarum* tidak dapat tumbuh pada suhu 45 °C. Hasil enumerasi menunjukkan bahwa total BAL adalah  $3,977 \times 10^9$  CFU/mL atau pada kisaran  $10^9$  CFU/mL, sedangkan total *Lactobacillus*

*plantarum* Dad 13 adalah  $1,473 \times 10^9$  CFU/mL, atau pada kisaran  $10^9$  CFU/mL.

### **Penyiapan Sel Bakteri EPEC (Enteropathogenic Escherichia coli ATCC 35218)**

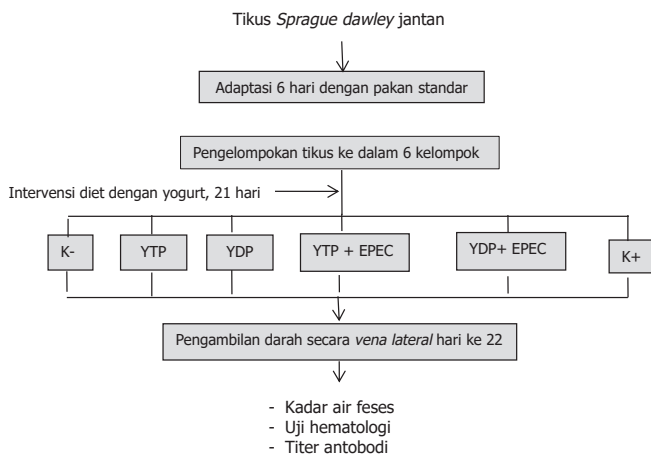
Sebanyak 0,1 mL kultur stok EPEC ATCC 35218 diinokulasikan ke dalam 5 mL media Nutrient Broth (NB) dan diinkubasi pada suhu 35-37 °C selama 24 jam. Selanjutnya diambil 0,5 mL kultur EPEC ATCC 35218 dan diinokulasikan dalam 10 mL media Nutrient Broth (NB) dan diinkubasi pada suhu 35-37 °C selama 24 jam. Untuk memperoleh jumlah EPEC ATCC 35218 sekitar  $10^7$  CFU/mL, maka suspensi sel tersebut kemudian diencerkan 100 kali pada larutan fisiologis NaCl 0,85% NaCl dan dipertahankan jumlahnya dengan penyimpanan selama 2 minggu pada suhu 10 °C.

### **Pengelolaan Hewan Coba**

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan hewan coba yaitu tikus jantan albino *Sprague dawley* dengan umur 5-6 minggu, sebanyak 30 ekor dengan bobot badan 100-120 g. Kandang yang digunakan adalah kandang individu yang berukuran 17,5 x 23,5 x 17,5, tanpa alas kandang. Suhu ruangan diatur pada 23-24 °C. Ransum diberikan sebanyak 20 g per ekor per hari setiap pukul 06.00-07.00 WIB. Air minum diberikan secara *ad libitum*. Komposisi ransum basal disusun berdasarkan standart AIN -93 dalam 1 kg mengandung 620,7 g pati jagung, 140 g kasein, 100 g sukrosa, 40 g minyak, 50 g serat, 35 g mineral, 10 g vitamin, 1,8 g L-sistein, 2,5 g kolin, dan 0,008 g tert-Buthydroquinone (TBHQ). Pemberian ransum basal penuh dilakukan pada awal penelitian selama 6 hari untuk adaptasi.

### **Perlakuan Yogurt Sinbiotik dengan Suplementasi Ekstrak Ubi Jalar Ungu dan Probiotik Lokal pada Hewan Coba**

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap, dengan enam perlakuan, yaitu K- (tikus dicekok dengan aquades mulai hari ke 1 - hari ke 21), YTP (tikus dicekok dengan yogurt tanpa probiotik mulai hari ke 1 - hari ke 21), YDP (tikus dicekok dengan yogurt probiotik mulai hari ke 1 - hari ke 21), YTP +EPEC (tikus dicekok dengan yogurt tanpa probiotik mulai hari ke 1 - hari ke 21, kemudian dicekok dengan EPEC hari ke 8 - hari ke 14), YDP +EPEC (tikus dicekok dengan yogurt probiotik mulai hari ke 1 - hari ke 21, kemudian dicekok dengan EPEC hari ke 8 - hari ke 14) dan K+(tikus dicekok dengan aquades pada hari ke 1 - hari ke 21, kemudian dicekok dengan EPEC pada hari ke 8 - hari ke 14). Masing-masing perlakuan diulang 5 kali. Seperti tersaji pada Gambar 1.



Keterangan:

- Yogurt diberikan secara oral menggunakan sonde sebanyak 1 mL/hari sejak hari ke 1 sampai hari ke 21 dengan populasi BAL  $10^9$  CFU/mL
- Infeksi EPEC ATCC 35218 dilakukan secara oral menggunakan sonde sebanyak 1 mL/ hari, sejak hari ke 8 sampai hari ke 14 dengan populasi EPEC  $10^7$  CFU/mL
- Terminasi tikus dilakukan masing-masing tikus pada hari ke 22

Gambar 1. Diagram alir penelitian

## Parameter Pengamatan

### Kadar air feses

Kadar air feses hewan coba diamati pada hari ke 8 dan ke 14, menggunakan metode Thermogravimetri. Kadar air feses diamati untuk mengetahui pengaruh pemberian EPEC ATCC 35218 terhadap kejadian diare pada tikus coba pada berbagai perlakuan.

### Analisis hematologi

Analisis hematologi yang meliputi parameter jumlah eritrosit, trombosit, dan leukosit, kadar hematokrit dan kadar hemoglobin dilakukan untuk mengetahui kondisi hematologi hewan coba yang terjadi. Analisis hematologi dilakukan sesuai metode Aboderin dan Oyetayo (2006). Prosedur analisisnya sebagai berikut: sampel darah dimasukkan ke dalam tabung yang berisi EDTA. Analisis dilakukan dengan menggunakan Hemavet HV950FS *multispecies hematology analyzer*.

### Pengolahan data dan statistik

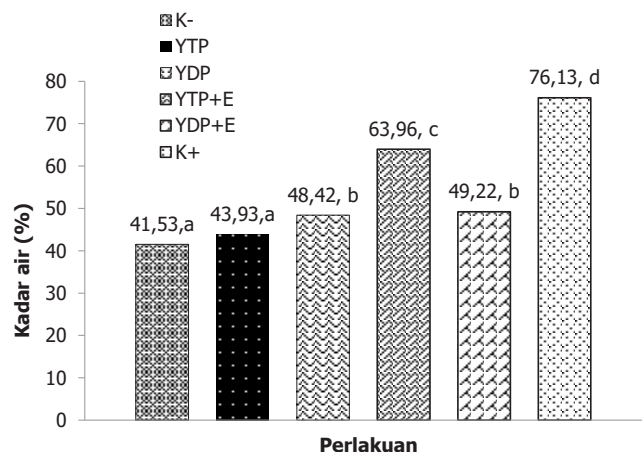
Data yang diperoleh pada penelitian dianalisis menggunakan uji *RAL-one way Anova*. Jika perlakuan menunjukkan pengaruh yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test (DMRT)* (Sarwono dkk., 2017)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kadar Air Feses

Kadar air feses tikus yang diamati pada hari ke 14 atau satu hari setelah perlakuan EPEC, disajikan pada Gambar 2. Dari Gambar 2 terlihat bahwa perlakuan yogurt probiotik dengan suplementari ekstrak ubi jalar ungu dan setelah paparan enteropathogenik *Escherichia* berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap kadar air feses tikus. Kelompok tikus dengan perlakuan YTP (yogurt tanpa probiotik) dan K+ (kontrol positif) mempunyai kadar air feses tinggi dan tergolong dalam kondisi diare (diatas 60%). Spehman dkk. (2009) melaporkan bahwa kadar air feses normal tikus adalah di bawah 60%, kejadian diare pada tikus ditandai dengan feses yang lembek dan kadar air di atas 60%, sedangkan diare sangat parah pada tikus ditandai dengan feses yang cair dan kadar air di atas 80%.

Kelompok tikus YDP+E dengan kadar air 49,22% boleh dikatakan tidak mengalami kejadian diare, walaupun kadar air sedikit lebih tinggi daripada kelompok tikus uji K-, YTP, dan YDP, hal ini dimungkinkan karena adanya probiotik pada yogurt ekstrak ubi ungu, yaitu *Lactobacillus plantarum* Dad 13 mampu melakukan mekanisme perlindungan terhadap bakteri EPEC ATCC 35218. Seperti diketahui populasi *Lactobacillus plantarum* Dad 13 yang mempunyai kemampuan probiotik telah diketahui sebesar  $1,473 \times 10^9$  CFU/mL, dan populasi tersebut masih cukup tinggi, berkisar  $2,433 \times 10^8$  CFU/mL pada sekum hewan coba 1 minggu setelah infeksi EPEC ATCC 35218 dilakukan secara oral (Tari dkk., 2017). Penelitian ini sejalan dengan penelitian oleh Sumaryati dkk. (2015), yang menunjukkan bahwa pemberian *Lactobacillus plantarum* Dad 13 selama satu



Gambar 2. Histogram kadar air feses (%) hewan coba pada berbagai perlakuan yogurt probiotik dengan suplementasi ekstrak ubi jalar ungu dan setelah paparan enteropathogenik *Escherichia coli* (EPEC) ATCC35218

minggu tidak menurunkan jumlah *E. coli* dan *coliform* pada feses tikus, namun pemberian *Lactobacillus plantarum* Dad 13 dapat meningkatkan jumlah *lactobacilli* pada feses sehingga rasio *lactobacilli* terhadap *E.coli* dan *coliform* meningkat. Hal ini membuktikan bahwa *Lactobacillus plantarum* Dad 13 memiliki potensi sebagai agensia probiotik. Hasil penelitian ini juga sesuai dengan pernyataan Jacobi dkk. (2011) yang mengatakan bahwa mekanisme perlindungan bakteri probiotik terhadap bakteri patogen terdiri antara lain melalui kompetisi penempelan pada sisi ikatan dan *nutrient*, dan sekresi anti mikroba (cara lokal) dan memperbaiki fungsi barrier epitel usus, mengurangi translokasi bakteri dan meregulasi sistem imun.

### Uji Darah (Hematologi)

Darah merupakan komponen yang sangat penting karena berfungsi mengedarkan substansi yang masuk ke dalam tubuh maupun yang dihasilkan tubuh dari proses metabolisme. Nilai hematologi (profil darah) berguna untuk menilai kondisi kesehatan dan sebagai acuan awal (*baseline*) atau kontrol dalam penelitian. Uji darah ini meliputi parameter jumlah eritrosit, leukosit, hemoglobin dan hematokrit.

### Eritrosit

Eritrosit merupakan komponen darah yang terbanyak dalam satu mililiter darah. Jumlah eritrosit normal pada tikus berkisar antara 7,0-11,0 x10<sup>6</sup>/μL (Douglas dan Wardrop, 2010). Kelompok tikus K+ dan YTP+E memiliki jumlah eritrosit lebih rendah (*p*<0,05) daripada kelompok tikus K-, YTP, dan YDP (Gambar 3). Penurunan jumlah sel darah merah yang terinfeksi bakteri EPEC ATCC35218, dimungkinkan adanya luka

sehingga darah keluar dari pembuluhnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Aboderin dan Oyetayo (2006) yang menyatakan bahwa perlakuan EPEC menyebabkan kerusakan membran sel dan mengganggu sifat permeabilitas dinding sel, sehingga sel akan mengalami kebocoran dan kehilangan beberapa metabolit, dan berakhir dengan berkurangnya sel darah merah. Kelompok tikus dengan perlakuan Probiotik (YDP) mempunyai kadar eritrosit tertinggi (8,58 x 10<sup>6</sup>/μL).

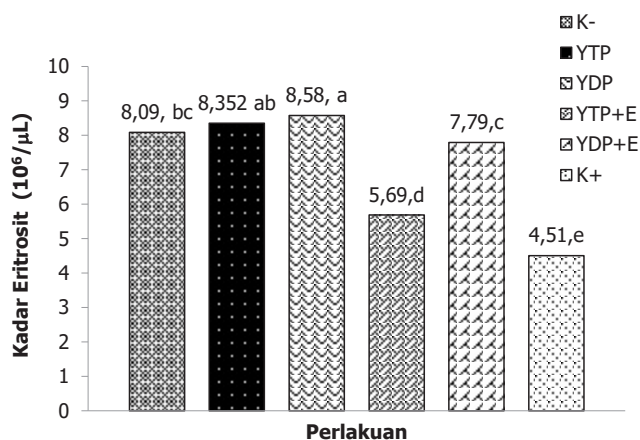
Pada Gambar 3 terlihat bahwa jumlah eritrosit pada kelompok tikus yang diinfeksi EPEC dan mengkonsumsi yogurt probiotik (YDP+E) apabila dibandingkan dengan kelompok tikus K+ terdapat beda sangat nyata (signifikan). Kondisi ini dimungkinkan bahwa kelompok tikus YDP+E mampu menstabilkan eritrosit bahkan sama dengan kelompok tikus K-, sedangkan kelompok tikus yang diinfeksi EPEC dan tanpa mengkonsumsi yogurt probiotik (K+) kadar eritrosit turun drastis. Hal ini disebabkan 2 hal. Hal pertama jumlah BAL secara keseluruhan dan *Lactobacillus plantarum* Dad 13 masih cukup tinggi, berkisar 3,977 x 10<sup>9</sup> CFU/mL pada hewan coba (Tari dkk., 2017). Hal kedua bahwa bakteri probiotik dalam hal ini *Lactobacillus plantarum* Dad 13 mempunyai sifat bakteriostatik yang disinyalir dapat melindungi membran plasma sel *host*.

Sifat bakteriostatik ini, dikarenakan adanya senyawa plantarisin (antibakteri yang dimiliki probiotik *Lactobacillus plantarum*) yang mekanisme kerjanya melalui penempelan molekul plantarisin pada membran spesifik (reseptor) atau membran non spesifik bakteri patogen. Mekanisme aksi bakteriosin tidak dipahami dengan baik, tetapi dalam literatur dilaporkan bahwa mereka dapat membunuh bakteri target dengan permeabilisasi membran atau dengan mengikat protein membran spesifik yang disebut "reseptor bakteriocin", di mana interaksi antara protein peptida dan reseptor mengarah ke kebocoran membran dan kematian sel (Oppegard dkk., 2016).

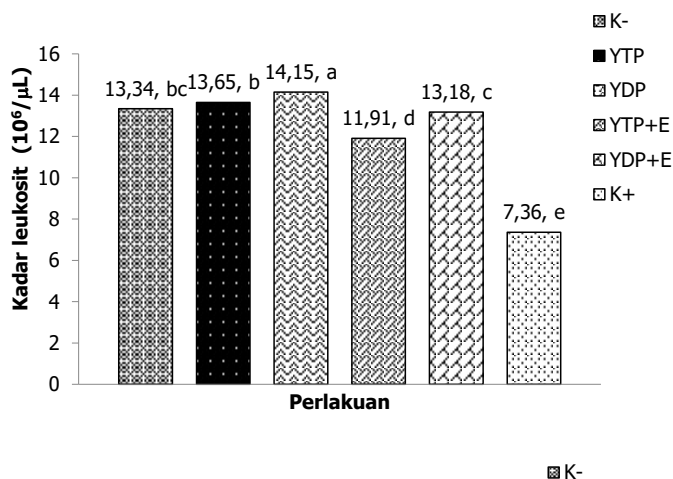
### Leukosit

Leukosit merupakan sel darah yang berperan penting dalam sistem imun (Maftuch dkk., 2012). Seperti diketahui, jumlah BAL pada yogurt yang diberikan kepada tikus coba secara keseluruhan termasuk *Lactobacillus plantarum* Dad 13 masih cukup tinggi, berkisar 3,977 10<sup>9</sup> CFU/mL, jumlah total *Lactobacillus plantarum* sekitar 1,473 x 10<sup>9</sup>CFU/mL. Hal ini berpengaruh terhadap respon imun sistemik terhadap tikus coba yang diinfeksi dengan bakteri patogen seperti EPEC ATCC35218.

Pada Gambar 4 terlihat bahwa tingginya jumlah *leukosit* pada kelompok tikus YTP+E maupun YDP+E apabila dibandingkan kelompok K+, walaupun sama-



Gambar 3. Histogram kadar eritrosit 10<sup>6</sup>/μL hewan coba pada berbagai perlakuan yogurt probiotik dengan suplementasi ekstrak ubi jalar ungu dan setelah paparan enteropathogenik *Escherichia coli* (EPEC) ATCC35218



Gambar 4. Histogram kadar Leukosit ( $10^6/\mu\text{L}$ ) hewan coba pada berbagai perlakuan yogurt probiotik dengan suplementasi ekstrak ubi jalar ungu dan setelah paparan enteropathogenik *Escherichia coli* (EPEC) ATCC35218

sama terkena paparan EPEC ATCC 35218, menunjukkan bahwa hal ini merupakan reaksi dari peningkatan daya tahan tikus coba. Selain itu meningkatnya jumlah leukosit tikus coba yang terinfeksi diduga karena sifat leukosit yang bersifat aktif dan bergerak menuju organ yang terinfeksi atau mengalami gangguan. Penelitian ini juga sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Nurliyani dkk., (2015), yang menyatakan bahwa *Lactobacillus plantarum* Dad 13 berpengaruh terhadap respon imun sistemik yang berhubungan dengan produksi  $\text{IFN-}\gamma$  pada tikus coba yang diinfeksi dengan *Salmonella thypimurium*. Keadaan ini menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* Dad 13 bersifat imunomodulator terhadap respon imun sistemik. Kelompok tikus dengan perlakuan YTP dapat meningkatkan jumlah bakteri baik, karena terdapatnya prebiotik berupa ubi jalar ungu yang mampu meningkatkan jumlah bakteri baik dalam tubuh inang (*host*) tikus coba. Kelompok tikus dengan perlakuan probiotik walaupun diselingi EPEC (YDP+E) juga mampu mempertahankan leukosit seperti kondisi normal. *Lactobacillus plantarum* Dad 13 melalui penelitian-penelitian sebelumnya telah dinyatakan sebagai bakteri probiotik (Sumaryati dkk., 2009). Salah satu sifat probiotik adalah dapat melekat pada permukaan usus untuk melindungi inang dari kolonisasi bakteri yang bersifat patogen dengan mekanisme yang berbeda-beda (Walsham dkk., 2015) sehingga dengan sifat mampu melekat pada permukaan usus untuk melindungi inang dari kolonisasi bakteri patogen tersebut menyebabkan jumlah leukosit masih cukup tinggi ( $13,18 \times 10^6 \mu\text{L}$ ).

Penurunan jumlah leukosit pada kelompok tikus dengan perlakuan YTP+E maupun YDP+E dibandingkan

K- dimungkinkan adanya luka pada mukosa usus akibat infeksi EPEC sehingga leukosit terpakai untuk pertahanan tubuh. Kondisi tersebut yang menyebabkan jumlah leukosit pada sirkulasi darah menjadi berkurang.

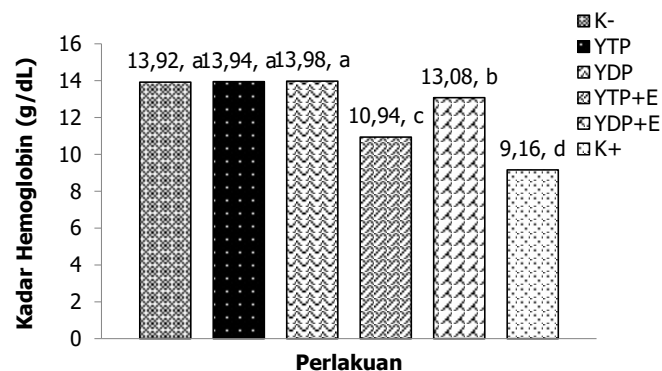
### Hemoglobin

Hemoglobin (Hb) adalah pigmen eritrosit yang terdiri dari protein kompleks terkonjugasi yang mengandung besi. Kadar hemoglobin tikus normal umur 6-8 minggu 11,6-16,1 g/dL (Douglas dan Wardrop, 2010). Gambar 5 memperlihatkan bahwa kelompok tikus dengan perlakuan K+ memiliki jumlah hemoglobin lebih rendah ( $p < 0,05$ ) daripada kelompok tikus K-, YTP, YDP, YTP+E maupun YDP+E.

Seperi diketahui, jumlah BAL pada yogurt yang diberikan kepada tikus coba secara keseluruhan termasuk *Lactobacillus plantarum* Dad 13 masih cukup tinggi, berkisar  $3,977 \times 10^9$  CFU/ml, sedangkan jumlah total *Lactobacillus plantarum* sekitar  $1,473 \times 10^9$  CFU/mL. Keberadaan jumlah BAL secara keseluruhan dan total *Lactobacillus plantarum* yang cukup tinggi, maka keberadaan antimikrobia yang dihasilkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen juga tinggi.

Menurut Aboderin dan Oyetayo (2006), bakteri patogen seperti EPEC dapat merusak permeabilitas membran sel dan menyebabkan rusaknya dinding sel, sehingga berakibat keluarnya hemoglobin dari sel dan menyebabkan menurunnya kadar hemoglobin.

Kelompok tikus YTP+E maupun YDP+E mempunyai kadar hemoglobin lebih tinggi dari pada kelompok tikus K+. Pada kelompok tikus YTP adanya prebiotik berupa ubi jalar ungu dimungkinkan karena mampu meningkatkan jumlah bakteri baik dalam inang (*host*). Pada kelompok tikus YDP memang sudah terdapat tambahan probiotik pada dietnya. Probiotik pada kedua kelompok tikus tersebut mempunyai kemampuan menghasilkan antimikrobia yang mampu menghambat pertumbuhan



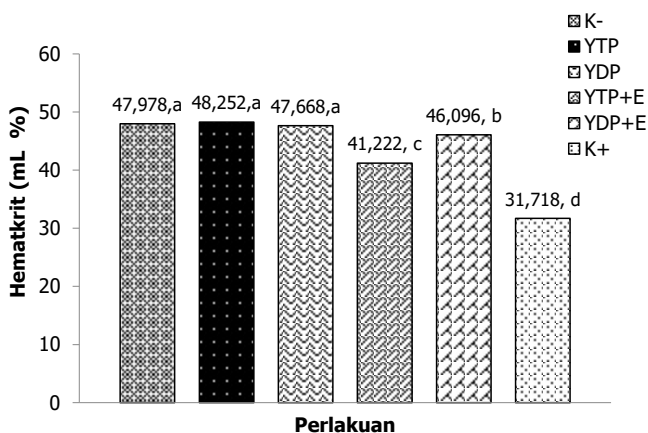
Gambar 5. Histogram kadar Hemoglobin (g/dL) hewan coba pada berbagai perlakuan yogurt probiotik dengan suplementasi ekstrak ubi jalar ungu dan setelah paparan enteropathogenik *Escherichia coli* (EPEC) ATCC35218

EPEC. Diduga adanya senyawa antimikrobia tersebut, maka *Lactobacillus plantarum* Dad 13 in vivo dapat mengurangi kerusakan epitel usus pada kelompok tikus YDP+E. Kerusakan pada kelompok tikus YDP +E, walaupun terjadi tetapi lebih ringan dibanding kelompok tikus yang tidak mengkonsumsi probiotik (K+). Jumlah hemoglobin pada kelompok tikus K+ (kelompok tikus yang diinfeksi dengan EPEC tanpa konsumsi yogurt probiotik) terlihat paling rendah.

**Hematokrit**

Hematokrit atau PVC (*Packed Cell Volume*) adalah persentase eritrosit di dalam 100 mL darah. Pada hewan normal, PVC sebanding dengan jumlah eritrositnya. Menurut (Douglas dan Wardrop, 2010) nilai hematokrit normal pada tikus umur 8–16 minggu antara 37,6–51%. Besarnya persentase hematokrit tergantung pada jumlah eritrosit total dan jumlah kebutuhan oksigen bagi metabolisme tubuh

Gambar 5 memperlihatkan bahwa kelompok tikus perlakuan K+ memiliki persentase hematokrit lebih rendah ( $p<0,05$ ) daripada kelompok tikus K-, YTP, YDP, YTP+E maupun YDP+E. Rendahnya kadar hematokrit kelompok K+, dimungkinkan adanya kerusakan mukosa dinding usus akibat terjadinya diare (ditandai dengan kadar air >60%) sehingga *nutrient* tidak dapat diserap dengan baik. Hal ini sesuai dengan pendapat Riswanto (2013), yang menyatakan bahwa persentase hematokrit yang rendah dapat disebabkan anemia (kekurangan sel darah merah), perdarahan, penghancuran sel darah merah, kekurangan gizi atau malnutrisi, dan konsumsi air yang berlebihan dapat disebabkan oleh darah yang terlalu encer karena jumlah eritrositnya rendah. Secara normal, jumlah eritrosit berkorelasi positif dengan nilai hematocrit.



Gambar 5. Histogram kadar Hematokrit ( $10^3/\mu\text{L}$ ) hewan coba pada berbagai perlakuan yogurt probiotik dengan suplementasi ekstrak ubi jalar ungu dan setelah paparan enteropathogenik *Escherichia coli* (EPEC) ATCC35218

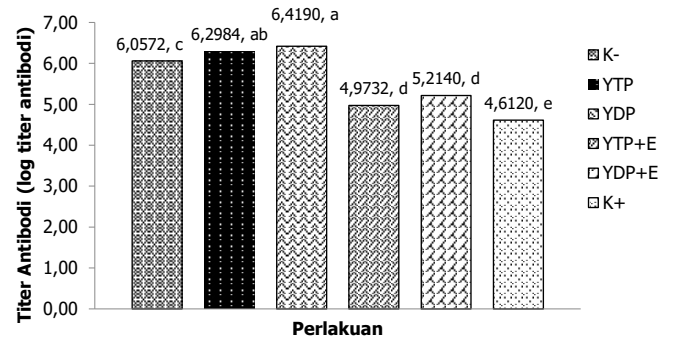
**Titer antibodi**

Sejumlah studi menunjukkan bahwa probiotik meningkatkan respon imunologi yang berbeda yang dievaluasi dengan berbagai parameter. Ketahanan tubuh tergantung dari adanya antibodi. Antibodi atau imunoglobulin adalah golongan protein yang dibentuk sel plasma (poliferasi sel B) akibat kontak dengan antigen. Keseimbangan antara antibodi dan antigen dalam tubuh akan menghasilkan status imunitas yang baik (Dwyana, 2017).

Pengamatan terhadap aktivitas imunoglobulin dapat dilakukan dengan melihat titer antibodi, yaitu pengenceran tertinggi dari larutan plasma darah yang memproduksi antibodi dan menunjukkan reaksi aglutinasi terhadap antigen yang diberikan.

Gambar 6 memperlihatkan bahwa kelompok tikus pada berbagai perlakuan memiliki jumlah titer antibodi berbeda nyata ( $p<0,05$ ). Kelompok tikus tanpa paparan EPEC ATCC 35218 yaitu K-, YTP dan YDP mempunyai titer antibodi lebih tinggi daripada kelompok tikus yang terpapar EPEC ATCC 35218 yaitu YTP+E, YDP+E maupun K+.

Apabila kelompok tikus YDP dibandingkan dengan kelompok tikus YTP +E, YDP +E maupun kontrol (K+) terlihat bahwa jumlah titer antibodi kelompok tikus YDP mempunyai jumlah titer antibodi tertinggi (6,419) dibandingkan titer antibodi kelompok-kelompok tikus yang terpapar *E.coli*, masing-masing 4,9732 pada kelompok tikus YTP+E 5,2140 pada kelompok tikus YDP+E dan 4,6120 pada kelompok tikus K+. Kelompok tikus dengan pemberian yogurt yang mengandung bakteri probiotik mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh ditandai dengan meningkatnya titer antibodi. BAL probiotik memiliki kemampuan dalam melindungi usus dari bakteri-bakteri enterik patogen (EPEC) dengan cara memproduksi senyawa-senyawa penghambat seperti asam-asam organik, hidrogen peroksida, dan



Gambar 6. Histogram titer antibodi hewan coba pada berbagai perlakuan yogurt probiotik dengan suplementasi ekstrak ubi jalar ungu setelah paparan enteropathogenik *Escherichia coli* (EPEC) ATCC35218



bakteriosin, memblokir sisi penempelan melalui kompetisi pada permukaan epitel usus, berkompetisi dalam perolehan nutrisi, mendegradasi reseptor toksin, serta menstimulir sistem imun (Jacobi dkk., 2011). Jepi (2011) menyatakan bahwa bakteri probiotik dapat memperkuat sistem imun karena adanya bantuan mukus. Perlekatan probiotik pada mukus ini diakibatkan oleh suatu zat protein yang dimiliki oleh probiotik tersebut, bernama "mucus-binding protein" (protein pengikat mukus). Adanya protein ini maka bakteri probiotik dapat menempel pada mukus saluran cerna dan melakukan interaksi dengan *host*.

Kelompok tikus dengan perlakuan intervensi EPEC pada YTP +E, YDP+E, dan kontrol (+) menunjukkan titer antibodi lebih rendah. Hal itu terjadi dimungkinkan karena lapisan pelindung mukus pada kelompok-kelompok tikus tersebut mengalami luka oleh pengaruh EPEC, sehingga probiotik tidak memungkinkan menempel pada dinding usus, akibatnya ketika diuji aktivitas imunoglobulinnya menunjukkan titer antibodi rendah.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan yogurt probiotik dengan suplementasi ekstrak ubi jalar ungu efektif terhadap kesehatan saluran pencernaan (kadar air feses), hematologi (jumlah eritrosit, leukosit, hemoglobin dan hematokrit) dan sistem imun (titer antibodi) akibat infeksi EPEC (*Enteropathogenic Escherichia coli*) penyebab diare. Perlakuan tikus coba dengan diet YDP (yogurt ekstrak ubi jalar ungu dan probiotik) memiliki kadar air feses 48,42%, jumlah eritrosit, leukosit, hemoglobin dan hematokrit masing-masing adalah 8,58  $10^6/\mu\text{L}$ , 14,14 $\times 10^6/\mu\text{L}$ , 13,98 g/dL dan 47,67 mL %. Titer antibodi adalah 6,42 log titer antibodi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian kepada Masyarakat Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah membiayai penelitian melalui dana penelitian Desentralisasi Penelitian Produk Terapan, Tahun Anggaran 2017.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa artikel ini asli, belum pernah dipublikasikan, dan bebas dari konflik kepentingan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aboderin, F. I., & Oyetayo, V. O. (2006). Haematological studies of rats fed different doses of probiotic, *Lactobacillus plantarum*, isolated from fermenting corn slurry. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5 (2), 102–105. <https://doi.org/10.3923/pjn.2006.102.105>
- Adib, A., H. Wahid, M., Sudarmono, P., & S. Surono, I. (2013). *Lactobacillus plantarum* pada Feses Individu Sehat yang Mengonsumsi *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dari Dadih. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 24(2), 154–161. <https://doi.org/10.6066/jtip.2013.24.2.154>
- Astawan, M., Wresdiyati, T., Arief, I. I., & Suhesti, E. (2011). Gambaran hematologi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinfeksi *Escherichia coli* enteropatogenik dan diberikan probiotik. *Media Peternakan*, 34(1), 7–13. <https://doi.org/10.5398/medpet.2011.34.1.7>
- Douglas JW, Wardrop KJ. (2010). *Schalm's Veterinary Hematology*. 6th ed. Wiley-Blackwell. P 852-887.
- Dwyana, Z. (2017). Aktivitas Imunoglobulin Mencit Jantan Pasca Pemberian Isolat Probiotik Dari Susu Kerbau. *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*, 8(2). <https://doi.org/10.20956/jal.v8i16.2986>
- Haryono, R. (2012). *Keperawatan medikal bedah sistem pencernaan*. Yogyakarta: Gosyen Publishing
- Jacobi, C. A., Schulz, C., & Malfertheiner, P. (2011). Treating critically ill patients with probiotics: Beneficial or dangerous? *Gut Pathogens*, 3(1), 2. <https://doi.org/10.1186/1757-4749-3-2>
- Jepi, 2011. Uji Efek Isolat Bakteri Probiotik dari Susu Kerbau Terhadap Aktivitas Imunoglobulin G (IgG) Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Makassar
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Dominguez, R., Pateiro, M., Saraiva, J. A., & Franco, D. (2018). Main groups of microorganisms of relevance for food safety and stability: General aspects and overall description. In *Innovative technologies for food preservation: Inactivation of spoilage and pathogenic microorganisms*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811031-7.00003-0>
- Nuraida, L., Palupi, N. S., Bastomi, R. R., Priscilia, D., & Nurjanah, S. (2012). Evaluation of Probiotics Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated From Breast Milk and Their Potency As Starter Culture. *International Journal of Food, Nutrition and Public Health*, 5(1), 33–60. Retrieved from <http://www.worldsustainable.org>
- Nurliyani, ., Julia, M., Harmayani, E., Ikawati, M., & Baliarti, E. (2015). Potency of *Lactobacillus plantarum* Dad-13 and Sweet Potato (*Ipomoea batatas*) Fiber as Immunomodulator in Rats Infected With *Salmonella Typhimurium*. *Journal of Food Research*, 4(3), 1. <https://doi.org/10.5539/jfr.v4n3p1>

- Oppegård, C., Kjos, M., Veening, J. W., Nissen-Meyer, J., & Kristensen, T. (2016). A putative amino acid transporter determines sensitivity to the two-peptide bacteriocin plantaricin JK. *MicrobiologyOpen*, 5(4), 700–708. <https://doi.org/10.1002/mbo3.363>
- Rahayu, E.S., Yogeswara, A., Utami, T., Suparmo. (2011). Indigenous Probiotic Strains of Indonesia and their application for fermented food. The 12th Asean food Conference. BITEC Bangn, Bangkok, Thailand 16-18 June 2011.
- Rahayu, E. S., Yogeswara, A., Mariyatun, Windiarti, L., Utami, T., & Watanabe, K. (2016). Molecular characteristics of indigenous probiotic strains from Indonesia. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 11(2), 109–116.
- Riswanto. (2013). *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi*. Alfabedia. Yogyakarta
- Sarwono, J dan Hendra Nur Salim. (2017). *Prosedur-prosedur Populer Statistik untuk Analisis Data Riset Skripsi*. Gaya Media. Yogyakarta
- S, Sukarni., & Sukmono, T. (2019). Kajian Penggunaan Ciprofloxacin terhadap Histologi Insang dan Hati Ikan Botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Biospecies*, 12(1), 55–67. <https://doi.org/10.22437/biospecies.v12i1.6597>
- Spehlmann, M. E., Dann, S. M., Hruz, P., Hanson, E., McCole, D. F., & Eckmann, L. (2009). CXCR2-Dependent Mucosal Neutrophil Influx Protects against Colitis-Associated Diarrhea Caused by an Attaching/Effacing Lesion-Forming Bacterial Pathogen. *The Journal of Immunology*, 183(5), 3332–3343. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0900600>
- Sumaryati, B. T., Utami, T., & Suparmo. (2009). Pengaruh Infeksi *Escherichia coli* dan Pemberian *Lactobacillus plantarum* Dad 13 terhadap Mikrobiota Feses Tikus Wistar. *Agritech*, 29(4), 165–170. <https://doi.org/https://doi.org/10.22146/>
- Tari, A. I.N., Catur Budi Handayani dan Ali Mursyid Wahyu Muyono. (2013). Bakteri Probiotik terhadap Mutu Yogurt Ekstrak Ubi Jalar Ungu dan Pemanfaatannya sebagai Pencegah Diare dan Imunomodulator. Laporan Penelitian Hibah Bersaing. Universitas Veteran Bangun Nusantara Sukoharjo.
- Tari, A.I.N, Catur Budi Handayani, S. (2016). Potensi Probiotik Indigenous *Lactobacillus plantarum* Dad 13 pada Yogurt dengan Suplementasi Ekstrak Ubi Jalar Ungu untuk Penurun Diare. *Agritech*, 36(1), 7–14. <https://doi.org/https://doi.org/10.22146/agritech.10677>
- Tari, A.I.N, Catur Budi Handayani dan Sudarmi. (2017). Probiotik Lokal untuk Kesehatan Saluran Pencernaan, Sistem Kekebalan Tubuh pada Minuman Fermentasi Laktat. Laporan Penelitian Produk Terapan. Universitas Veteran Bangun Nusantara Sukoharjo.
- Utami, T., Djaafar, T. F., & Rahayu, E. S. (2014). Growth of *Lactobacillus paracasei* SNP-2 in Peanut Milk and Its Survival in Fermented Peanut Milk Drink During Storage. *Indonesian Food and Nutrition Progress*, 13(1), 11–16. <https://doi.org/https://doi.org/10.22146/jifnp.116>
- Varma, P., Dinesh, K. R., Menon, K. K., & Biswas, R. (2010). *Lactobacillus Fermentum* Isolated from Human Colonic Mucosal Biopsy Inhibits the Growth and Adhesion of Enteric and Foodborne Pathogens. *Journal of Food Science*, 75 (9). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01818.x>
- World Health Organization (WHO). (2010). Pakistan: IDP hosting and crisis affected districts, Khyber, Pakhtunkhwa, week 21, 22-28 May 2010. WHO: Weekly Morbidity and Mortality Report.
- Walsham, A. D. S., MacKenzie, D. A., Cook, V., Wemyss-Holden, S., Hews, C. L., Juge, N., & Schüller, S. (2016). *Lactobacillus reuteri* inhibition of enteropathogenic *Escherichia coli* adherence to human intestinal epithelium. *Frontiers in Microbiology*, 7(MAR), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00244>
- Zhou, Y. K., Qin, H. L., Zhang, M., Shen, T. Y., Chen, H. Q., Ma, Y. L., Liu, Z. H. (2012). Effects of *lactobacillus plantarum* on gut barrier function in experimental obstructive jaundice. *World Journal of Gastroenterology*, 18(30), 3977–3991. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i30.3977>
- AOAC. (2002). Guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. *AOAC International*, 1–38.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry* (4th ed.). Berlin: Springer-Verlag.
- Hua, X., & Yang, R. (2016). Enzymes in Starch Processing. In R. L. Ory & A. J. S. Angelo (Eds.), *Enzymes in food and beverage processing* (pp. 139–170). Boca Raton: CRC Press. <http://doi.org/10.1021/bk-1977-0047>
- OECD-FAO. (2011). OECD-FAO Agricultural Outlook - OECD.
- Pratiwi, T. (2014). *Uji Aktivitas Ekstrak Metanolik Sargassum hystrix dan Eucheuma denticulatum dalam Menghambat  $\alpha$ -Amilase dan  $\alpha$ -Glukosidase*. Universitas Gadjah Mada.
- Setyaningsih, W., Saputro, I. E., Palma, M., & Barroso, C. G. (2016). Pressurized liquid extraction of phenolic compounds from rice (*Oryza sativa*) grains. *Food Chemistry*, 192. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.102>
- Setyaningsih, W., Saputro, I. E., Palma, M., & Carmelo, G. (2015). Profile of Individual Phenolic Compounds in Rice (*Oryza sativa*) Grains during Cooking Processes. In *International Conference on Science and Technology 2015*. Yogyakarta, Indonesia.