

**PEMANFAATAN ISOLAT PROBIOTIK ASAL TAPE SINGKONG
SEBAGAI ANTIDOTUM LOGAM MERKURI (Hg)
PADA TIKUS *Rattus norvegicus***

ASNIDAR

H411 15 304



**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2019

**PEMANFAATAN ISOLAT PROBIOTIK ASAL TAPE SINGKONG
SEBAGAI ANTIDOTUM LOGAM MERKURI (Hg)
PADA TIKUS *Rattus norvegicus***

*Skripsi ini disusun untuk melengkapi tugas dan memenuhi syarat untuk
memperoleh gelar Sarjana Sains pada Departemen Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin*

ASNIDAR

H411 15 304

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2019

LEMBAR PENGESAHAN

**PEMANFAATAN ISOLAT PROBIOTIK ASAL TAPE SINGKONG
SEBAGAI ANTIDOTUM LOGAM MERKURI (Hg)
PADA TIKUS *Rattus norvegicus***

ASNIDAR

H411 15 304

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama



Dr. Zohra Hasyim, M. Si.
NIP. 19590322 198702 2 001

Pembimbing Pertama



Dr. Zaraswati Dwyana, M. Si.
NIP. 19651209 199008 2 001

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamualaikum Warahmatullah Wabarakatuh

Alhamdulillah rabbil alamin, segala puji bagi Allah SWT. atas berkat, nikmat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pemanfaatan Isolat Probiotik Asal Tape Singkong sebagai Antidotum Logam Merkuri (Hg) pada Tikus *Rattus norvegicus*” yang merupakan syarat untuk menyelesaikan jenjang Strata Satu (S1) Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Ungkapan kasih tiada hingga kepada kedua orang tua, Muhtar Laebo dan Cinnong Kanu, yang telah melahirkan dan membesarkan serta senantiasa memberi semangat dan dukungan untuk penulis. Kepada kedua saudaraku, Takdir Muhtar dan Ayu Muhtar, terima kasih atas segala dukungan kalian, entah itu berupa tenaga maupun materi yang tidak bisa penulis sebutkan. Semoga Allah senantiasa mencurahkan kasihnya untuk kita semua.

Terima kasih kepada ibu Dr. Zohra Hasyim, M. Si. selaku pembimbing utama dan ibu Dr. Zaraswati Dwyana, M. Si. selaku pembimbing pertama yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Tidak lupa penulis ucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, MA., selaku Rektor Universitas Hasanuddin.
2. Bapak Dr. Eng. Amiruddin, S. Si., M. Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

3. Ibu Dr. Nur Haedar, S. Si., M. Si., selaku Ketua Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
4. Ibu Dr. Zaraswati Dwyana, selaku Penasihat Akademik yang senantiasa memberi arahan kepada penulis selama masa perkuliahan.
5. Ibu Dr. Zohra Hasyim, M. Si., ibu Dr. Zaraswati Dwyana, M. Si., bapak Dr. Ir. Slamet Santosa, M. Si., dan ibu Dr. Rosana Agus, M. Si., selaku penguji seminar dan ujian sidang sarjana.
6. Bapak/Ibu dosen serta staf pegawai Departemen Biologi yang senantiasa memberikan bimbingan serta ilmunya selama penulis menempuh pendidikan di bangku perkuliahan.
7. Fuad Gani, S. Si., Nenis Sardiani, S. Si., Heriadi, S. Si., Riyan Sukma, S. Si., M.A.S. Adnan Harisman, S. Si., Syahrul Gunawan, S. Si., Riskawati, S. Si., dan Nur Samsi, S. Si., kakak yang telah membimbing dan memberi arahan selama penulis melaksanakan penelitian.
8. A. Nur Ainun dan Arfina Yusuf, selaku rekan penelitian yang selalu berbagi motivasi kepada penulis, serta membantu hingga proses penelitian dan penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
9. Kakak dan adik selingkup KM FMIPA Unhas yang telah memberikan sebuah pengalaman dan pelajaran yang sangat luar biasa terkenang.
10. MIPA 2015, yang telah menjadi kawan berbagi suka. Terkhusus untuk kawan-kawan pengurus BEM KM FMIPA Unhas periode 2018/2019, terima kasih atas setiap bantuannya.
11. BIOCLEMAT15, yang telah menjadi keluarga dan senantiasa memberi motivasi kepada penulis. Teruntuk Unzia Sagita Putri, terima kasih atas dukungan yang selalu diberikan.

12. A. Rika, Ayu Angraeni, Erfianti, Jasmin Raisman, Lisnawati, Mirtati, Reza Ulfiani, Ririn Ulfa Damayanti, Rismawati, dan Wildayani, yang telah menerima, menemani, serta memotivasi penulis dalam menyelesaikan proses penyusunan skripsi.
13. Abdul Wahab dan Muhammad Rifaat, atas setiap dukungan yang diberikan selama penulis menempuh pendidikan di bangku kuliah.
14. Resky, S., yang telah menjadi rekan sepenanggungan sejak penulis masih mahasiswa baru hingga sekarang.
15. Rekan-rekan delegasi KKNT Bilateral Universitas Andalas - Universitas Hasanuddin Gel.99, serta kawan-kawan mahasiswa KKN PPM RM Universitas Andalas Ke-47 yang telah mengabdikan di Nagari Pariangan.
16. Semua pihak yang turut andil dalam proses penyusunan skripsi.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi perkembangan dunia sains di kemudian hari.

Makassar, 10 Juli 2019

Penulis

ABSTRAK

Makanan fermentasi adalah makanan yang diproses dengan bantuan mikroorganisme atau komponen biologis lainnya. Tape merupakan produk yang dihasilkan dari proses fermentasi, yang mengalami suatu perombakan bahan dan degradasi komponen pati menjadi dekstrin dan glukosa, selanjutnya glukosa diubah menjadi alkohol. Salah satu mikroorganisme yang berperan penting dalam proses fermentasi adalah bakteri asam laktat (BAL) yang memiliki sifat sebagai probiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri probiotik asal tape singkong secara *in vivo* sebagai antidotum keracunan merkuri (Hg) pada hewan uji tikus *Rattus norvegicus*. Penelitian dilakukan dengan memberi 5 perlakuan berbeda dengan masing-masing 3 ulangan. Hasil yang diamati ialah kadar merkuri dalam darah serta kondisi morfologi secara berkala selama 14 hari perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian bakteri probiotik asal tape singkong berpengaruh dalam menurunkan kadar metil merkuri dalam darah.

Kata kunci: Makanan Fermentasi, Probiotik, Antidotum, Merkuri (Hg).

ABSTRACT

Fermented foods are foods that are processed with the help of microorganisms or other biological components. *Tapai* is a product that is produced from the fermentation process, which undergoes material overhaul and degradation of starch components into dextrin and glucose, then glucose is converted to alcohol. One of the microorganisms that play an important role in the fermentation process is lactic acid bacteria (LAB) which has properties as probiotics. This research aims to determine the potential of probiotic bacteria originating from cassava *tapai* in vivo as antidote of mercury poisoning (Hg) in *Rattus norvegicus* rat test animals. The research was conducted by giving 5 different treatments with each of 3 replications. The results observed were levels of mercury in the blood and periodic morphological conditions for 14 days of treatment. The result shows that administration of probiotic bacteria from cassava *tapai* have an effect on reducing blood levels of methyl mercury.

Keywords: Fermented Foods, Probiotics, Antidote, Mercury (Hg).

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian.....	3
I.3 Manfaat Penelitian.....	3
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Makanan Fermentasi	4
II.2 Bakteri Asam Laktat	6
II.3 Logam Merkuri (Hg).....	11
II.4 Probiotik sebagai Produk Antidotum Detoksifikasi Merkuri	14
II.5 Tinjauan Umum Tikus Putih.....	16
BAB III METODE PENELITIAN	18
III.1 Alat	18
III.2 Bahan	18

III.3 Prosedur	18
III.3.1 Sterilisasi Alat	18
III.3.2 Pembuatan Media MRSA.....	19
III.3.3 Penyiapan Isolat Bakteri Probiotik.....	19
III.3.4 Pembuatan Larutan Merkuri.....	19
III.3.5 Penyiapan Hewan Uji.....	19
III.3.6 Pemberian Probiotik dan Larutan Merkuri.....	20
III.3.7 Pengambilan Sampel Darah	20
III.3.8 Penghitungan Kadar Merkuri dalam Darah	20
III.3.9 Analisis Data	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
IV.1 Kadar Metil Merkuri dalam Darah	22
IV.2 Pengamatan Morfologi Hewan Uji.....	25
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	27
V.1 Kesimpulan	27
V.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN.....	31

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Analisis Kadar Merkuri dalam Sampel Darah.....	22
2. Hasil Pengamatan Morfologi Hewan Uji.....	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Grafik Perbandingan Kadar Merkuri dalam Sampel Darah	23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian	31
2. Skema Kerja Analisis Kadar Merkuri dengan AAS	32
3. Gambar Stok Bakteri Probiotik	33
4. Gambar Perlakuan Pada Hewan Uji dan Pengambilan Sampel Darah	34
5. Proses Pengerjaan Analisis Kadar Merkuri dengan Menggunakan AAS	35
6. Tabel Hasil Analisis Logam Merkuri dalam Sampel Darah	36
7. Tabel Hasil ANOVA	37

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Indonesia dikaruniai potensi sumber daya alam yang tinggi, antara lain adalah makanan fermentasi tradisional. Makanan ini telah berada sejak lama di Indonesia dibuat oleh nenek moyang yang telah membudaya dan diturunkan dari generasi ke generasi. Makanan fermentasi ini diproduksi dalam suatu industri rumah tangga atau industri kecil (Pawiroharsono, 2007).

Makanan fermentasi adalah makanan yang diproses melalui bantuan mikroorganisme atau komponen biologis lain seperti enzim, sehingga memberikan produk sedemikian rupa yang menguntungkan bagi manusia dari sudut pandang kesehatan. Banyak orang menggemari makanan fermentasi, tetapi hanya sedikit yang menyadari bahwa makanan fermentasi memiliki keunggulan terutama dari segi manfaat (khasiat) dan keamanan bagi kesehatan (Masdarini, 2011).

Tape merupakan produk yang dihasilkan dari proses fermentasi, di mana terjadi suatu perombakan bahan dan degradasi komponen pati menjadi dekstrin dan glukosa, selanjutnya glukosa diubah menjadi alkohol. Pada hakikatnya semua makanan yang mengandung karbohidrat bisa diolah menjadi tape. Namun, sampai sekarang yang sering diolah adalah ketan dan singkong (Hasanah, *et al.*, 2012).

Mikroorganisme mempunyai peran yang sangat menentukan pada proses dan produk makanan fermentasi. Mikroorganisme yang terlibat pada fermentasi pada umumnya bersifat multi-kultur, dimana satu atau lebih galur mikroorganisme bertindak sebagai pemeran utama dan mikroorganisme lainnya dianggap sebagai mikroorganisme kontaminan (Pawiroharsono, 2007).

Salah satu mikroorganisme yang berperan penting dalam proses fermentasi adalah bakteri asam laktat (BAL). Berdasarkan manfaat di bidang kesehatan dengan mengonsumsi bahan pangan yang diproduksi dengan melibatkan bakteri asam laktat, Sujaya *et al.* (2016) memaparkan bahwa BAL dapat berkembang biak pada saluran pencernaan manusia sehingga menyebabkan terjadinya perubahan keseimbangan bakteri saluran pencernaan yang memberikan efek menyehatkan. Hal ini mendorong pemanfaatan BAL di era sekarang ini tidak hanya untuk memproduksi bahan pangan tetapi juga sengaja dirancang untuk memodifikasi bakteri saluran pencernaan manusia yang populer dengan istilah probiotik.

Publikasi ilmiah tentang manfaat probiotik bagi kesehatan telah banyak dilakukan seperti menurunkan kadar kolesterol, meringankan reaksi alergi terhadap laktosa, memproduksi vitamin B, meningkatkan absorpsi kalsium, memodulasi sistem imun, mencegah infeksi berbagai bakteri patogen, dan mengurangi risiko kanker kolon (Sujaya *et al.*, 2016). Selain itu, hasil penelitian lain menunjukkan bahwa pemberian bakteri probiotik berpengaruh nyata menurunkan kadar metil merkuri dalam darah.

Merkuri merupakan salah satu logam berat yang berbahaya karena memiliki massa tinggi dan dalam konsentrasi kecil dapat bersifat racun. Merkuri secara alami dapat ditemukan di alam dan tersebar dalam batu-batuan, peningkatan pencemaran merkuri akibat aktivitas antropogenik seperti kegiatan pertambangan, peleburan biji, pembakaran bahan bakar fosil, produksi klorin, dan kaustik soda serta pembakaran sampah/limbah (Shofi, 2017).

Secara umum logam merkuri akan berwujud cair pada suhu kamar (25⁰C) dengan titik beku paling rendah sekitar 39⁰ C. Logam ini merupakan logam yang paling mudah menguap jika dibandingkan dengan logam yang lain. Tahanan listrik

yang dimiliki sangat rendah, sehingga merkuri sangat baik untuk menghantarkan daya listrik. Adapun sifat yang paling umum diketahui yaitu merkuri merupakan unsur yang sangat beracun bagi semua makhluk hidup, baik itu dalam bentuk unsur tunggal (logam) ataupun dalam bentuk persenyawaan (Suryani, 2011).

Keracunan akut oleh elemen merkuri dan organomerkuri yang terhisap akan berdampak terhadap sistem pernapasan. Sedangkan, garam merkuri yang tertelan akan berpengaruh terhadap sistem saluran pencernaan dan juga terhadap kerusakan ginjal. Adapun efek sekunder dari keracunan merkuri akan berdampak terhadap sistem kardiovaskuler (Lestaris, 2010).

Berdasarkan hal tersebut, maka akan dilakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan bakteri probiotik asal tape singkong sebagai antidotum keracunan merkuri (Hg) pada tikus *Rattus norvegicus*.

I.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui potensi bakteri probiotik asal tape singkong secara *in vivo* sebagai antidotum keracunan merkuri (Hg) pada hewan uji tikus *Rattus norvegicus*.

I.3 Manfaat Penelitian

Memperoleh informasi mengenai potensi bakteri probiotik asal tape singkong yang resisten terhadap merkuri (Hg) sehingga dapat dijadikan sebagai produk antidotum detoksifikasi merkuri (Hg) secara *in vivo*.

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari - April 2019 di Laboratorium Zoologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar dan analisis kadar merkuri (Hg) dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Makanan Fermentasi

Fermentasi merupakan salah satu proses pengolahan bahan makanan dengan memanfaatkan mikroorganisme. Produk makanan fermentasi sudah dikenal sejak jaman kuno untuk maksud-maksud tertentu, yang antara lain untuk pengawetan makanan, untuk meningkatkan cita rasa, dan untuk menghasilkan produk baru (Pawiroharsono, 2007).

Fermentasi dapat didefinisikan sebagai proses metabolisme dimana akan terjadi perubahan-perubahan kimia dalam substrat organik, kegiatan atau aktivitas mikroba yang membusukkan bahan-bahan yang difermentasi. Perubahan kimia yang terjadi tergantung pada jenis bahan yang digunakan, macam mikroba, pH, suhu, dan adanya aerasi atau usaha lain yang berbeda dengan faktor-faktor diatas, misal dengan adanya penambahan-penambahan bahan tertentu untuk menggiatkan proses fermentasi (Wulandari, 2008).

Menurut Wulandari (2008), ada beberapa faktor yang memengaruhi proses fermentasi, antara lain adalah sebagai berikut :

a. pH

Mikroba tertentu dapat tumbuh pada kisaran pH yang sesuai untuk pertumbuhannya. Khamir dapat hidup pada pH rendah yaitu antara 1-2.

b. Suhu

Suhu yang digunakan dalam fermentasi akan mempengaruhi mikroba yang berperan dalam proses fermentasi. Suhu optimal pada proses fermentasi yaitu 35° C dan 40° C.

c. Oksigen

Bila tersedia O₂ dalam jumlah besar, maka produksi sel-sel khamir dipacu. Bila produksi alkohol yang dikehendaki, maka diperlukan suatu penyediaan O₂ yang sangat terbatas. Produk akhir dari suatu fermentasi sebagian dapat dikendalikan dengan tegangan O₂ substrat apabila faktor-faktor lainnya optimum.

d. Substrat

Mikroba memerlukan substrat yang mengandung nutrisi sesuai dengan kebutuhan untuk pertumbuhannya.

Selama proses fermentasi berlangsung, makromolekul seperti protein dan karbohidrat dihidrolisis sehingga menjadi asam-asam amino dan gula sederhana, yang dapat meningkatkan nilai gizi serta terbentuk senyawa penyumbang cita rasa (*flavor*). Setelah proses fermentasi, nilai gizi, cita rasa, dan tekstur akan menjadi lebih baik (Masdarini, 2011).

Proses fermentasi tidak hanya menimbulkan efek pengawetan terhadap hasil yang didapatkan, tetapi juga menyebabkan perubahan tekstur, cita rasa dan aroma bahan pangan yang membuat produk hasil fermentasi lebih menarik, mudah dicerna dan bergizi (Wulandari, 2008).

Tape adalah makanan fermentasi yang terbuat dari ubi kayu atau beras ketan oleh aktivitas mikroorganisme. Mikroorganisme tersebut ada yang tergolong amilolitik (merubah amilum menjadi glukosa), sakarolitik (merubah glukosa menjadi alkohol), dan alkoholitik (merubah alkohol menjadi asam asetat). Dari hasil fermentasi, tape memiliki berbagai rasa, manis, alkoholis, dan bisa berasa sedikit asam yang dalam proporsi tertentu sehingga memberikan rasa enak. Sifat tekstur, rasa, dan aroma akan lebih baik apabila sebelum diolah, bahan tape direndam dalam air kapur (Masdarini, 2011).

Selama fermentasi, kandungan protein meningkat dari 1-2% menjadi 4% , demikian juga kandungan tiamin dan terosinnya meningkat secara berturut-turut dari 0,04 mg/100g menjadi 0,1 dan 0,12/g. Jadi, tape lebih bergizi dibandingkan dengan bahan dasarnya. Bahkan, ada beberapa hipotesa bahwa selama fermentasi, kandungan HCN ubi kayu dapat dihilangkan atau diturunkan, meski belum jelas mekanismenya. Dari sudut pandang manfaatnya, kelebihan utama tape adalah memiliki vitamin B1 sekitar 300% dibanding bahan dasarnya, ubi kayu maupun beras ketan. Diketahui, tape rendah alkohol, dengan pemberian ragi kurang dari 1% dengan masa inkubasi 3 hari atau tape dengan kondisi fermentasi aerobik dapat bermanfaat bagi tubuh (Masdarini, 2011).

II.2 Bakteri Asam Laktat

Istilah bakteri asam laktat (BAL) mulanya ditujukan hanya untuk sekelompok bakteri yang menyebabkan keasaman pada susu (*milk-souring organisms*). Secara umum BAL didefinisikan sebagai suatu kelompok bakteri gram positif, tidak menghasilkan spora, berbentuk bulat atau batang yang memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolik utama selama fermentasi karbohidrat. BAL dikelompokkan ke dalam beberapa genus antara lain *Streptococcus* (termasuk *Lactococcus*), *Leuconostoc*, *Pediococcus*, dan *Lactobacillus* (Pato, 2003).

Bakteri asam laktat dapat diisolasi dari berbagai sumber alam, seperti dari tanah, tanaman, air, limbah dan juga dari saluran genital dan pencernaan manusia dan hewan. Dalam sejarahnya, BAL untuk pertama kalinya diisolasi dari susu, selanjutnya juga ditemukan pada berbagai jenis makanan dan produk pangan terfermentasi seperti daging, susu, dan sayuran (Sujaya, *et al.*, 2016).

Bakteri asam laktat dilaporkan mampu memproduksi asam laktat sebagai produk akhir dari perombakan karbohidrat, hydrogen peroksida, dan

bakteriosin, sehingga mampu menghambat dan membunuh bakteri patogen, meningkatkan aktivitas bakteri normal dan bakteri berguna lainnya serta menyerap bahan-bahan berbahaya selanjutnya memiliki efek anti tumor yang lebih kuat dibandingkan bakteri lainnya (Astini, *et al.*, 2014).

Bakteri asam laktat yang bersifat amilolitik merupakan bakteri asam laktat yang mampu memanfaatkan pati sebagai substratnya. Beberapa BAL dapat menghasilkan amilase ekstraseluler dan memfermentasi pati secara langsung menjadi asam laktat. Isolasi dan identifikasi BAL yang bersifat amilolitik telah banyak dilakukan. Isolat BAL yang telah diisolasi sebelumnya umumnya dari genus *Lactobacillus* (Yusmarini *et al.*, 2017).

Aktivitas bakteri asam laktat pada fermentasi bahan berpati berperan terhadap perubahan karakteristik produk untuk memproduksi asam laktat, enzim spesifik, dan senyawa aromatik. Bakteri asam laktat dapat menghasilkan amilase ekstraseluler dan memfermentasi pati secara langsung menjadi asam laktat. Hal ini disebabkan fermentasi dengan BAL amilolitik akan menggabungkan dua proses yaitu hidrolisis enzimatis substrat karbohidrat (pati) sekaligus fermentasi yang memanfaatkan gula yang dihasilkan menjadi asam laktat (Putri, *et al.*, 2012).

Sebagian besar BAL dapat tumbuh sama baiknya di lingkungan yang memiliki dan tidak memiliki O₂ (tidak sensitif terhadap O₂), sehingga termasuk anaerob aerotoleran. Bakteri yang tergolong dalam BAL memiliki beberapa karakteristik tertentu yang meliputi: tidak memiliki porfirin dan sitokrom, katalase negatif, tidak melakukan fosforilasi transpor elektron, dan hanya mendapatkan energi dari fosforilasi substrat. Sifat-sifat khusus bakteri asam laktat adalah mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, mampu memfermentasikan monosakarida dan disakarida (Tambunan, 2016).

Menurut Sriwahyuni (2017), beberapa keunggulan yang dimiliki BAL, yaitu: (1) BAL mampu menghasilkan senyawa-senyawa yang dapat memberikan rasa dan aroma spesifik pada makanan fermentasi, (2) BAL mampu meningkatkan nilai cerna pada makanan fermentasi karena dapat melakukan pemotongan pada bahan makanan yang sulit dicerna sehingga dapat langsung diserap oleh tubuh, misalnya protein diubah menjadi asam amino, (3) BAL menghasilkan senyawa antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba patogen dan pembusuk pada bahan makanan sehingga dapat memperpanjang masa simpan produk tersebut. Senyawa-senyawa antimikroba yang dihasilkan BAL antara lain: asam laktat, hidrogen peroksida, CO₂, dan bakteriosin.

Bakteri asam laktat memiliki sifat probiotik yang dapat menguntungkan inangnya dengan cara memperbaiki komposisi mikrobiota usus. BAL yang memiliki sifat probiotik memiliki banyak efek positif seperti anti mikroba, aktivitas anti kolesterol, efek stimulasi sistem imun, meningkatkan penyerapan laktosa oleh tubuh, mencegah diare, dan aktivitas anti mutagenik sehingga dapat mencegah penyakit kanker usus. Ada beberapa syarat yang harus diperhatikan apakah suatu BAL memiliki sifat probiotik, antara lain: ketahanan terhadap asam dan garam empedu, dan aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen (Tambunan, 2016).

Tambunan (2016) menyebutkan, syarat yang harus dipenuhi oleh bakteri asam laktat yang berfungsi sebagai probiotik antara lain: (1) suatu probiotik harus non patogenik yang mewakili mikroorganisme normal usus dari inang tertentu dan masih aktif pada kondisi asam lambung dan konsentrasi garam empedu yang tinggi di dalam usus halus, (2) suatu probiotik yang baik harus mampu tumbuh dan bermetabolisme dengan cepat dan terdapat dalam jumlah yang tinggi pada usus, (3) probiotik yang ideal dapat mengkolonisasi beberapa bagian saluran usus untuk

sementara, (4) probiotik dapat memproduksi asam-asam organik secara efisien dan memiliki sifat antimikroba terhadap bakteri-bakteri yang merugikan, (5) mudah diproduksi, mampu tumbuh dalam sistem produksi skala besar, dan dapat hidup selama kondisi penyimpanan.

Probiotik merupakan istilah yang pertama kali dicetuskan oleh Lilly dan Stilwell pada tahun 1965, untuk menyatakan efek stimulasi pertumbuhan dari suatu organisme terhadap organisme yang lain. Kemudian definisi probiotik berkembang sebagai suplemen pakan yang berisi sel mikroorganisme hidup yang digunakan untuk memperbaiki keseimbangan mikroflora di dalam jalur intestin. Saat ini probiotik lebih diartikan sebagai konsumsi biomassa hidup sebagai aditif makanan untuk tujuan kesehatan (Purwandhani dan Rahayu, 2007).

Secara umum probiotik didefinisikan sebagai mikroba hidup yang digunakan sebagai pakan imbuhan dan dapat menguntungkan inangnya dengan meningkatkan keseimbangan mikrobial pencernaannya. Pemberian mikroba hidup tersebut dalam jumlah yang cukup dapat memengaruhi komposisi dan ekosistem mikroflora pencernaan. Kondisi ekosistem mikroflora dalam saluran pencernaan memengaruhi untuk kinerja dan kesehatan. Ketidakseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan karena terjadinya kolonisasi bakteri patogen atau mikroflora yang dapat mengganggu kinerja (Haryati, 2011).

Widyastuti (2008) memaparkan, probiotik adalah pakan tambahan berupa mikroorganisme yang dapat memberikan pengaruh menguntungkan dengan cara mempertahankan dan memperbaiki keseimbangan mikroorganisme di dalam saluran pencernaan. Probiotik termasuk dalam kategori pakan fungsional karena memberikan pengaruh kesehatan pada inangnya. Persyaratan utama mikroorganisme probiotik adalah bertahan hidup pada saluran pencernaan.

Hampir pada semua hewan, probiotik berperan meningkatkan konsumsi pakan. Kondisi tersebut dikarenakan meningkatnya daya cerna makanan oleh hewan yang menyebabkan saluran pencernaan cepat kosong sehingga dapat dicapai efisiensi pakan. Probiotik selain berperan pada peningkatan konsumsi pakan juga dapat meningkatkan laju pertumbuhan sehingga berperan pada penurunan angka konversi pakan (Lokapirnasari *et al.*, 2016).

Probiotik dapat berupa bakteri, jamur atau ragi, akan tetapi yang paling bersifat probiotik adalah bakteri. Menurut Trisna (2012), tidak semua bakteri baik dapat dijadikan sebagai probiotik, salah satu bakteri yang berperan sebagai probiotik adalah bakteri asam laktat (BAL). Pada mulanya, bakteri asam laktat terdiri dari 4 genus yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus*. Namun demikian, beberapa genus baru masuk kedalam kelompok bakteri asam laktat menurut revisi taksonomik terakhir. Genus *Streptococcus* mencakup *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* dan *Vagococcus*.

Beberapa persyaratan yang diperlukan untuk menjadikan strain bakteri asam laktat sebagai agensia probiotik adalah bahwa strain tersebut merupakan mikroflora alami jalur pencernaan manusia, tumbuh dan tetap hidup pada makanan sebelum dikonsumsi, tetap hidup walaupun melewati jalur pencernaan, memiliki resistensi terhadap asam lambung, berperan sebagai antibiotik, terhadap lisosim; dapat tumbuh pada intestin dan memiliki kemampuan untuk menempel pada sel epitel intestin manusia, memberikan efek yang menguntungkan pada usus, memproduksi asam dalam jumlah yang besar dan cepat, mampu menghasilkan komponen antimikroba lain disamping asam (bakteriosin, hidrogen peroksida, diasetil dan reuterin) yang efektif menghambat bakteri lain yang tidak dikehendaki, khususnya bakteri patogen (Purwandhani dan Rahayu, 2007).

Secara umum bakteri probiotik hidup di dalam saluran pencernaan dan bermutualisme dengan tubuh inangnya, hidup pada pH 2-4, tidak mengakibatkan hal yang negatif pada tubuh, tidak patogen, umumnya tidak membentuk spora, *saccharolytic*, umumnya anaerob, tidak mengganggu ekosistem tubuh, hidup dan tumbuh di dalam usus (Fuller, 1989).

Banyak sekali manfaat kesehatan dari produk probiotik, antara lain meningkatkan ketahanan terhadap penyakit infeksi saluran pencernaan dan menurunkan risiko terjadinya tumor dan kanker kolon, menurunkan konsentrasi kolesterol serum darah, mengurangi reaksi *lactose intolerance*, menurunkan tekanan darah/antihipertensi, memengaruhi respon imun, bersifat antimutagenik, serta bersifat antikarsinogenik (Tambunan, 2016).

II.3 Logam Merkuri (Hg)

Logam merkuri (Hg) adalah salah satu *trace element* yang mempunyai sifat cair pada temperatur ruang dengan spesifik gravity dan daya hantar listrik yang tinggi. Merkuri merupakan salah satu jenis polutan yang bersifat toksik yang umumnya dihasilkan dari sumber emisi industri dan didistribusikan secara global dari sumber pengendapannya melalui atmosfer ke permukaan bumi (Suryani, 2011; Santi dan Goenadi, 2009).

Logam merkuri dapat ditemukan dalam berbagai senyawa kimia dan termasuk logam yang sangat berbahaya terutama dalam senyawa organik yaitu metal dan etil merkuri. Semua senyawa Hg ini bersifat toksik untuk makhluk hidup bila jumlahnya banyak dapat merusak saraf tubuh dan dalam waktu yang lama senyawa Hg akan tersimpan secara permanen di dalam tubuh. Pengaruh toksisitas Hg pada organisme tergantung pada bentuk komposisi merkuri, rute masuk ke dalam tubuh dan lama terpaparnya Hg (Shofi, 2017).

Siklus merkuri di alam dimediasi oleh proses geologi dan biologi. Bentuk utama merkuri di atmosfer adalah uap merkuri (Hg^0) yang mudah menguap dan dioksidasi menjadi ion merkuri (Hg^{2+}) sebagai hasil dari interaksi terhadap ozon dengan adanya air. Kebanyakan merkuri yang masuk ke lingkungan perarian adalah Hg^{2+} . Organisme predator yang ada di tingkat paling atas dalam rantai makanan umumnya memiliki konsentrasi merkuri lebih tinggi, yang dikenal sebagai bentuk organik metylmerkuri (Suryani, 2011).

Merkuri terbentuk dalam tiga tingkatan valensi yang berbeda, yaitu sebagai Hg^0 , Hg_2^{2+} , dan Hg^{2+} . Sifat penting merkuri lainnya adalah kemampuannya dalam mengikat ion sulfida secara kuat. Di dalam larutan tanah, fraksi Hg^{2+} hanya terbentuk dalam beberapa menit saja. Fraksi utama akan terikat dalam mineral tanah atau dijerap pada permukaan tanah, serta senyawa anorganik dan organik lainnya. Kadar merkuri di dalam tanah sangat bervariasi dan tergantung tingkat kedalaman khususnya pada tanah-tanah alami (Santi dan Goenadi, 2009).

Di dalam air, logam merkuri dapat mengalami biotransformasi menjadi senyawa organik metilmerkuri atau fenil merkuri akibat adanya proses dekomposisi yang dilakukan oleh bakteri. Senyawa organik tersebut akan terserap oleh jasad renik yang selanjutnya akan masuk ke dalam rantai makanan dan akhirnya akan terjadi akumulasi dan biomagnifikasi dalam tubuh organisme yang mengkonsumsinya (Amelia *et al.*, 2016).

Umumnya bentuk kimia merkuri yang terpapar pada manusia adalah uap merkuri Hg^0 dan senyawa metylmerkuri yang merupakan racun yang sangat kuat bagi semua organisme hidup. Adanya kontaminasi limbah logam berat mengakibatkan beberapa bakteri, jamur dan tanaman telah berevolusi sehingga memiliki mekanisme resistensi terhadap beberapa bentuk zat kimia yang berbeda.

Bakteri memainkan peran penting dalam siklus global merkuri dalam lingkungan sekitar. Berkenaan dengan bakteri resistensi terhadap merkuri dan peran bakteri tersebut dalam siklus merkuri telah dipelajari secara ekstensif (Suryani, 2011).

Uap merkuri dapat menyebabkan efek samping yang sangat merugikan bagi kesehatan. Diantara sesama senyawa merkuri anorganik, uap logam merkuri (Hg) merupakan yang paling berbahaya. Ini disebabkan karena sebagai uap, merkuri tidak terlihat dan dengan sangat mudah akan terhisap seiring kegiatan pernapasan yang dilakukan. Pada saat terpapar oleh logam merkuri, sekitar 80% dari logam merkuri akan terserap oleh alveoli paru-paru dan jalur-jalur pernapasan untuk kemudian ditransfer ke dalam darah (Hakim, 2018).

Logam merkuri dapat bercampur dengan enzim di dalam tubuh manusia sehingga menyebabkan hilangnya kemampuan enzim untuk bertindak sebagai katalisator. Logam Hg ini dapat terserap ke dalam tubuh melalui saluran pencernaan dan kulit. Sifat beracun dan cukup volatil membuat uap merkuri sangat berbahaya jika terhisap, meskipun dalam jumlah yang sangat kecil. Merkuri bersifat racun yang kumulatif, dalam artian sejumlah kecil merkuri yang terserap ke dalam tubuh dalam jangka waktu yang lama akan menimbulkan bahaya. Bahaya penyakit yang ditimbulkan yaitu kerusakan rambut dan gigi, hilang daya ingat dan terganggunya sistem saraf (Mirdat *et al.*, 2013).

Merkuri merupakan salah satu jenis logam berat berbahaya yang banyak terdapat di alam. Merkuri diketahui memiliki dampak buruk terhadap kesehatan manusia. Keracunan merkuri dapat menyebabkan kerusakan sistem saraf pusat, kerusakan ginjal, kerusakan paru-paru, pada janin dapat menimbulkan cacat mental, buta, dan serebral palsy, serta bisa meningkatkan angka kematian. Senyawa merkuri juga dikenal karena aktivitas immunosupresif (Sompie, *et al.*, 2016).

Salah satu usaha untuk detoksifikasi merkuri dilakukan menggunakan mikroorganisme resisten merkuri. Mikroorganisme yang terdapat pada daerah tercemar merkuri berperan utama untuk detoksifikasi merkuri. Apabila bakteri tersebut dapat beradaptasi pada lingkungan dengan tingkat kontaminasi logam berat yang tinggi, maka diasumsikan bahwa penggunaan bakteri tersebut sangat efektif dalam meningkatkan reduksi logam berat (Amelia *et al.*, 2016).

II.4 Probiotik sebagai Produk Antidotum Detoksifikasi Merkuri (Hg)

Bakteri resisten merkuri memiliki peran dalam proses detoksifikasi merkuri dengan cara mereduksi ion Hg^{2+} menjadi ion Hg^0 oleh enzim merkuri reduktase, dari yang sebelumnya bersifat toksik menjadi kurang toksik. Detoksifikasi merkuri oleh bakteri resisten merkuri dapat terjadi karena bakteri tersebut memiliki gen resistensi merkuri yaitu operon *mer*, yang strukturnya berbeda-beda untuk setiap jenis bakteri (Sompie, *et al.*, 2016).

Mikroba terutama bakteri diketahui dapat mendetoksifikasi logam merkuri. Mekanisme detoksifikasi logam berat oleh mikroba berlangsung sangat kompleks yang meliputi presipitasi dan kristalisasi logam berat yang terjadi pada bagian ekstraseluler dan intraseluler mikroba. Beberapa bakteri yang telah diketahui dapat resisten terhadap logam merkuri adalah bakteri aerobik dan fakultatif yang mengkatalisasi proses reduksi Hg^{2+} menjadi Hg^0 seperti pada bakteri probiotik jenis *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, dan *Vibrio*. Reduksi oleh bakteri tersebut dapat digunakan sebagai strategi remediasi untuk endapan terkontaminasi. Percepatan laju reduksi Hg^{2+} oleh bakteri sangat memungkinkan untuk digunakan dalam teknik bioremediasi *in situ* (Rondonuwu, *et al.*, 2014).

Menurut Sompie, *et al.* (2016), *bacillus* merupakan bakteri yang bersifat kosmopolit dan memiliki resistensi terhadap banyak logam berat seperti kromium,

arsen, selenium, dan juga terhadap merkuri. Spesies bakteri dalam genus *Bacillus* memiliki resistensi yang berbeda-beda terhadap merkuri. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, beberapa spesies *Bacillus* mampu mengakumulasi kandungan logam merkuri sehingga dapat mengurangi konsentrasi merkuri di media tumbuhnya seperti *Bacillus sp.* 68%, *Bacillus megaterium* 98%, *Bacillus sphaericus* 47%, dan *Bacillus cereus* 94%.

Kemampuan reduksi merkuri setiap bakteri berbeda-beda. Perbedaan resistensi ini berhubungan dengan mekanisme respon bakteri terhadap merkuri yang secara umum bervariasi, yaitu: (1) penghambatan metabolisme seluler sehingga pertumbuhan sel terhambat atau mati; (2) induksi kerja operon resistensi merkuri sehingga bakteri tetap hidup; atau (3) terbentuknya plasmid dengan gen resistensi merkuri (Sompie, *et al.*, 2016).

Khotimah dan Zulaika (2014) memaparkan, toksisitas logam berat merkuri dapat dikurangi oleh adanya aktivitas bakteri. Bakteri yang mampu hidup pada lingkungan tercemar merkuri disebut bakteri resisten merkuri. Bakteri resisten merkuri dibagi menjadi 2 tipe, yaitu (1) bakteri resisten merkuri spektrum sempit adalah bakteri yang hanya resisten terhadap merkuri anorganik dan (2) bakteri resisten merkuri spektrum luas adalah bakteri yang resisten terhadap merkuri anorganik dan organik.

Resistensi bakteri terhadap merkuri dapat melalui mekanisme biosorpsi dan bioakumulasi. Mekanisme biosorpsi merupakan proses pasif, sehingga logam tidak meracuni bakteri sedangkan mekanisme bioakumulasi merupakan proses aktif dimana logam berat dapat meracuni sel bakteri. Mekanisme biosorpsi berhubungan dengan adanya eksopolisakarida pada dinding sel bakteri yang berfungsi sebagai pengkelat logam berat di permukaan sel (Sompie, *et al.*, 2016).

II.5 Tinjauan Umum Tikus Putih

Tikus merupakan hewan laboratorium yang banyak digunakan dalam penelitian dan percobaan antara lain untuk mempelajari pengaruh obat-obatan, toksisitas, metabolisme, embriologi maupun dalam mempelajari tingkah laku. Tikus termasuk hewan mamalia, oleh sebab itu dampak fisiologis terhadap suatu perlakuan tidak jauh berbeda dibanding dengan mamalia lainnya. Tikus memiliki siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganan (Adleend, 2015).

Tikus putih *Rattus norvegicus* dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Krinke, 2000) :

Kingdom	:	Animalia
Phyllum	:	Chordata
Classis	:	Mammalia
Ordo	:	Rodentia
Familia	:	Muridae
Genus	:	<i>Rattus</i>
Species	:	<i>Rattus norvegicus</i>

Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian di antaranya perkembangbiakan cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap arsenik tiroksid (Akbar, 2010).

Menurut Krinke (2000), rekomendasi mengenai usia tikus tidak jauh berbeda, yaitu untuk studi toksisitas akut digunakan tikus muda atau dewasa muda

dengan usia sekitar 8 minggu. Rute perawatan atau perlakuan yang paling umum digunakan adalah oral. Namun, apabila terdapat kemungkinan terpapar bahan kimia lingkungan, rute inhalasi atau dermal direkomendasikan sebagai rute sekunder.

Tikus putih adalah salah satu hewan yang umum digunakan dalam eksperimental laboratorium dan mempunyai sifat yang membedakannya dari hewan percobaan lain, yaitu tidak dapat muntah. Hal tersebut terjadi karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat esofagus bermuara ke dalam lambung dan tidak mempunyai kantong empedu. Selain itu, tikus putih memiliki keuntungan sebagai model yang dapat mencerminkan karakter fungsional dari sistem tubuh mamalia. Adapun berat badan tikus putih pada saat umur empat minggu mencapai 35-40 gram dan berat dewasa rata-rata 200-250 gram (Pambudi, 2017).

Galur tikus yang sering digunakan antara lain Wistar, Sprague-Dawley, Osborne-Mendel, Long-Evans, Holtzman, Slonaker, Albany. Namun, diantara galur tersebut, Wistar dan Sprague-Dawley merupakan tikus yang paling populer digunakan untuk eksperimen. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley (Krinke, 2000).

Tikus dewasa banyak digunakan sebagai model eksperimental untuk menyelidiki heterogenitas listrik di ventrikel kiri dalam kondisi normal dan patofisiologis. Anatomi sistem kardiovaskular manusia dan tikus tidak jauh berbeda. Volume darah yang dipompa oleh jantung, resistensi perifer total, dan kapasitas vena diatur dari waktu ke waktu untuk menjaga tekanan darah dan volume darah hampir konstan. Hal ini sangat penting untuk menjaga pasokan darah yang cukup ke berbagai jaringan tubuh. Sistem saraf pusat memproses informasi perifer pada tekanan darah, gas darah, pH, volume, dan suhu untuk menjaga tekanan darah dan menyesuaikan aliran secara efisien (Suckow, *et al.*, 2005).

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat

Alat yang digunakan yaitu tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, gelas objek, corong, batang pengaduk, pipet tetes, cawan porselin ukuran 100 ml, *Laminar Air Flow*, inkubator, oven, mikroskop, autoklaf, spektrofotometer, *hot plate*, neraca analitik, timbangan elektrik, lemari pendingin, penjepit tabung, rak tabung reaksi, *disposable syringe*, *canule*, kandang untuk pemeliharaan tikus, tempat air minum, kapiler hematokrit/mikrohematokrit, tabung eppendorf, dan *Atomic Absorption Spectrofotometri (AAS)*.

III.2 Bahan

Bahan yang digunakan ialah isolat bakteri probiotik asal tape singkong (koleksi laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin), tikus jantan *Rattus norvegicus* L. umur 2-3 bulan dengan berat rata-rata 200 g, merkuri asetat ($\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$), pakan tikus, alkohol 70%, air suling, medium MRS (Man Ragoza Sharpe) (OXOID), NaCl fisiologis, asam nitrat (HNO_3), asam klorida (HCl) pekat, asam amino esensial, kapas, kasa, dan aluminium foil.

III.3 Prosedur

III.3.1 Sterilisasi Alat

Semua alat yang digunakan disterilkan terlebih dahulu. Alat yang terbuat dari gelas disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Sedangkan, alat yang terbuat dari logam dicuci dengan alkohol atau dipijarkan di atas api bunsen.

III.3.2 Pembuatan Media MRSA

Sebanyak 5,6 g media MRSA dilarutkan ke dalam 100 ml aquades kemudian dipanaskan hingga larut. Media selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

III.3.3 Penyiapan Isolat Bakteri Probiotik

Isolat bakteri probiotik dari makanan fermentasi tape singkong yang diberi kode P₁ dan P₅ diremajakan terlebih dahulu pada medium MRSA selama 1x24 jam. Isolat bakteri disuspensikan menggunakan NaCl fisiologis, kemudian dihitung kerapatan selnya hingga diperoleh 10⁹ CFU/ml. Selanjutnya isolat siap untuk diberikan ke tikus.

III.3.4 Pembuatan Larutan Merkuri

Berdasarkan nilai LD₅₀ merkuri asetat yang diberikan pada tikus per oral adalah 41 mg/kg Berat Badan (BB) (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1989) yang setara dengan 4 ppm, maka dosis yang digunakan adalah 2 ppm, yang diperoleh dengan cara melarutkan sebanyak 0.002 g merkuri asetat ke dalam 100 ml aquades.

III.3.5 Penyiapan Hewan Uji

Tikus dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan, masing-masing terdiri atas 3 ekor tikus, yaitu:

P₁: Variasi diberi larutan merkuri dengan dosis 2 ppm;

P₂: Variasi diberi larutan merkuri dengan dosis 2 ppm + suspensi probiotik P₁;

P₃: Variasi diberi larutan merkuri dengan dosis 2 ppm + suspensi probiotik P₅;

P₄: Variasi diberi larutan merkuri dengan dosis 2 ppm + suspensi probiotik P₁ + P₅;

P₅: Variasi tidak diberi perlakuan.

Sebelum membuat perlakuan, semua tikus diadaptasikan dengan kondisi kandang dan pakan selama tiga hari. Semua kelompok tikus diberi ransum standar dan minum *ad libitum*.

III.3.6 Pemberian Probiotik dan Larutan Merkuri

Volume larutan probiotik dan larutan merkuri yang diberikan didasarkan pada berat badan tikus uji pada setiap kelompok perlakuan. Pemberian larutan probiotik untuk kelompok perlakuan P₂, P₃, dan P₄ dilakukan setiap hari selama 14 hari secara oral. Hal ini dilakukan agar bakteri probiotik dapat beradaptasi di dalam saluran pencernaan tikus.

Pada hari ke-8, hari ke-10, dan hari ke-12 dilakukan pemberian larutan merkuri secara oral tanpa menghentikan pemberian probiotik. Kelompok P₅ tidak diberi perlakuan. Pengamatan gejala klinis tentang keadaan fisik tikus dilakukan setiap hari selama 14 hari.

III.3.7 Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke-15. Darah diambil melalui ekor, jantung, maupun vena orbitalis pada mata tikus uji dengan menggunakan spoid.

III.3.8 Penghitungan Kadar Merkuri dalam Darah

a. Destruksi Sampel

Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian masing-masing ditambahkan HNO₃ sebanyak 3 ml, lalu didiamkan selama 1x24 jam. Selanjutnya, sampel dipanaskan menggunakan *hotplate* hingga sampel berwarna kuning bening. Kemudian dilakukan pengenceran 100 ml aquades menggunakan labu ukur lalu dimasukkan ke dalam botol.

b. Analisis Merkuri

Mula-mula *Atomic Absorption Spectrofotometri (AAS)* dihidupkan, setelah alat AAS siap digunakan, sampel dimasukkan ke dalam botol reaksi yang terhubung pada alat AAS, kemudian ditambahkan asam amino esensial 5 ml dan HCl pekat sebanyak 10 ml. Terakhir, sampel dianalisis menggunakan AAS.

III.3.9 Analisis Data

Analisis yang digunakan ialah analisis kuantitatif dan kualitatif menggunakan program SPSS 25. Analisis kuantitatif digunakan dalam pengamatan data primer, yaitu kadar merkuri dalam darah. Hasil percobaan dianalisis dengan ANOVA (Analysis of Variance) dan apabila terdapat beda nyata antar perlakuan, maka dilanjutkan uji DMRT (Duncan Multiple Range Test) dengan taraf signifikansi 5 %. Data kualitatif yang lain berupa keadaan fisik dan berat badan tikus uji dijadikan data pendukung.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1. Kadar Metil Merkuri dalam Darah

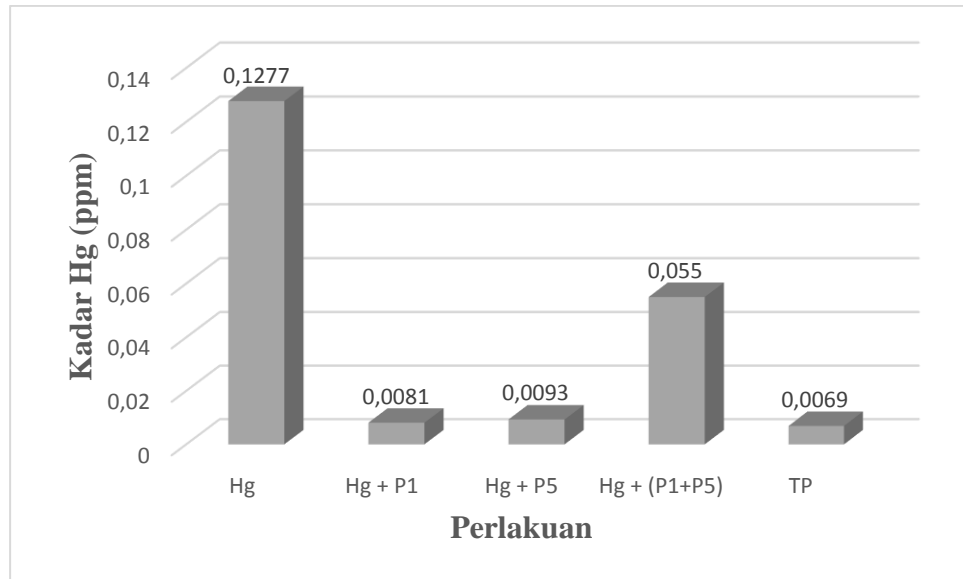
Tabel 1. Hasil Analisis Kadar Merkuri dalam Sampel Darah

No.	Perlakuan	Rata-rata Kadar Merkuri (ppm)
1.	Hg	0,1277
2.	Hg + P ₁	0,0081
3.	Hg + P ₅	0,0093
4.	Hg + (P ₁ + P ₅)	0,0550
5.	Tanpa Perlakuan	0,0069

Ket : Hg : Pemberian metil merkuri asetat 2 ppm
Hg + P₁ : Pemberian metil merkuri 2 ppm dan isolat probiotik P₁
Hg + P₅ : Pemberian metil merkuri 2 ppm dan isolat probiotik P₅
Hg + (P₁ + P₅) : Pemberian metil merkuri 2 ppm dan kedua isolat probiotik
TP : Tanpa diberi perlakuan

Hasil analisis kadar merkuri yang tercantum pada Tabel 1. menunjukkan bahwa sampel yang tidak diberi perlakuan (kontrol positif) memiliki kadar merkuri yang paling sedikit jika dibandingkan dengan sampel yang diberi perlakuan. Adapun sampel yang mengandung kadar merkuri paling tinggi ialah sampel yang diberi perlakuan berupa pemberian merkuri saja, yaitu kontrol negatif.

Kelompok perlakuan yang dijadikan sebagai kontrol negatif memiliki rata-rata kadar merkuri sebesar 0,1277 ppm. Kelompok perlakuan yang diberi isolat probiotik P₁ memiliki rata-rata kadar merkuri sebesar 0,0081 ppm. Kelompok perlakuan yang diberi isolat probiotik P₅ memiliki rata-rata kadar merkuri sebesar 0,0093 ppm. Kelompok perlakuan yang diberi isolat probiotik P₁ dan P₅ memiliki rata-rata kadar merkuri sebesar 0,0550 ppm. Sedangkan, kelompok yang dijadikan sebagai kontrol positif memiliki kadar merkuri sebesar 0,0069 ppm.



Gambar 1. Perbandingan kadar merkuri dalam sampel darah tikus.

Perbandingan kadar merkuri dalam darah tikus antara kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kelompok perlakuan kontrol positif menunjukkan perbedaan sebesar 0,1208 ppm. Perbandingan kadar merkuri antara kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kelompok perlakuan yang diberi isolat bakteri probiotik asal tape singkong menunjukkan adanya penurunan. Untuk kelompok perlakuan yang diberi isolat bakteri probiotik P₁ mengalami penurunan sebesar 0,1196 ppm. Kelompok perlakuan yang diberi isolat bakteri probiotik P₅ mengalami penurunan sebesar 0,1184 ppm. Adapun kelompok perlakuan yang diberi kedua spesies bakteri probiotik P₁ dan P₅ mengalami penurunan sebesar 0,0727 ppm.

Metil merkuri merupakan senyawa yang sangat toksik, ia diabsorpsi oleh tubuh melalui ingesti maupun inhalasi. Setelah diabsorpsi di saluran pencernaan, metil merkuri akan ditransportasikan ke eritrosit dan protein plasma. Metil merkuri di saluran pencernaan akan diubah menjadi merkuri anorganik oleh flora usus. Dalam peristiwa ini, setiap zat yang masuk akan diolah di dalam tubuh, sehingga terjadi perubahan secara biokimia yang akan mengubah ciri-ciri fisik dan kimia xenobiotik, terutama sifat lipofilnya (Widyawati, 2007).

Merkuri yang diserap melalui pencernaan akan masuk ke aliran darah dan berikatan dengan protein yang memiliki gugus S-S yang berfungsi untuk mentransfer merkuri ke hati dan ginjal. Merkuri kemudian diekskresikan melalui kulit berupa keringat, melalui ginjal berupa urin, dan melalui saluran pencernaan berupa feses (Sompie, *et. al.*, 2016).

Widyawati (2007) memaparkan bahwa metil merkuri yang diekskresikan di feses berupa merkuri anorganik. Sebagian metil merkuri diekskresikan di empedu yang kemudian diabsorpsi lagi, oleh karena itu menyebabkan sirkulasi enterohepatik dari bentuk organik tersebut. Kurang dari 1% metil merkuri dalam tubuh diekskresikan per hari dengan waktu paruh metil merkuri sekitar 70 hari.

Berdasarkan hasil uji statistik berupa *Analysis of Variance* (ANOVA), menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Hal tersebut dapat dilihat dari nilai signifikan 0.514 yang lebih besar dari 0.05 sebagai taraf nyata. Meskipun demikian, isolat probiotik yang digunakan tetap memiliki potensi sebagai produk antidotum detoksifikasi logam merkuri (Hg).

Menurut Nascimento dan Souza (2003), sistem resistensi bakteri probiotik berdasarkan gen *mer-operon* memungkinkan bakteri untuk mendetoksifikasi Hg²⁺ menjadi merkuri yang mudah menguap oleh adanya reduksi enzimatis. Bakteri tersebut dikodekan oleh *mer-operon*, biasanya terletak pada plasmid dan kromosom berupa komponen transposon dan integron. *Mer-operon* dibentuk oleh gen yang menyandikan protein fungsional untuk regulasi (*merR*), transportasi (*merT*, *merP*, dan/atau *merC*, *merF*) dan reduksi (*merA*). Pada beberapa kasus, gen *merB* diperlukan untuk memberikan resistensi terhadap organo merkuri, seperti metil merkuri, dengan menghidrolisis ikatan C-Hg sebelum pengurangan Hg²⁺.

IV.2. Pengamatan Morfologi Hewan Uji

Penelitian ini dilakukan selama 2 bulan masa adaptasi hewan uji dan 15 hari masa perlakuan. Selama masa perlakuan dilakukan pengamatan berkala.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Morfologi Hewan Uji

Perlakuan	Ulangan	Berat Badan (g)			Kondisi Fisik		
		Awal	Praperl.	Pascaperl.	Warna	Rambut	Tingkah Laku
Hg	I	142	222	225	Kuning	Rontok	Agresif
	II	129	200	202	Kuning	Rontok	Agresif
	III	160	230	233	Kuning	Rontok	Agresif
Hg + P ₁	I	123	221	226	Putih	Tidak Rontok	Tenang
	II	136	215	222	Putih	Tidak Rontok	Tenang
	III	121	171	176	Putih	Tidak Rontok	Tenang
Hg + P ₅	I	122	204	209	Putih	Tidak Rontok	Tenang
	II	130	184	190	Putih	Tidak Rontok	Tenang
	III	130	217	222	Putih	Tidak Rontok	Tenang
Hg + (P ₁ +P ₅)	I	136	198	202	Putih	Tidak Rontok	Tenang
	II	127	252	257	Putih	Tidak Rontok	Tenang
	III	138	210	214	Putih	Tidak Rontok	Tenang
TP	I	144	193	200	Putih	Tidak Rontok	Tenang
	II	135	176	185	Putih	Tidak Rontok	Tenang
	III	165	180	188	Putih	Tidak Rontok	Tenang

Ket : Hg : Pemberian metil merkuri asetat 2 ppm
 Hg + P₁ : Pemberian metil merkuri 2 ppm dan isolat probiotik kode P₁
 Hg + P₅ : Pemberian metil merkuri 2 ppm dan isolat probiotik kode P₅
 Hg + (P₁ + P₅) : Pemberian metil merkuri 2 ppm dan kedua isolat probiotik
 TP : Tanpa diberi perlakuan

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi yang tercantum pada Tabel 2., dapat diketahui bahwa kelompok perlakuan yang hanya diberi larutan merkuri (kontrol negatif) mengalami kenaikan berat badan sekitar 2-3 g, dengan rambut berwarna kuning, rontok, dan agresif. Kelompok perlakuan yang diberi isolat bakteri probiotik P₁ mengalami kenaikan berat badan sekitar 5-7 g, dengan rambut berwarna putih, tidak rontok dan tenang. Kelompok perlakuan yang diberi isolat bakteri probiotik P₅ mengalami kenaikan berat badan sekitar 5-6 g, dengan rambut berwarna putih, tidak rontok, dan tenang. Kelompok perlakuan yang diberi campuran kedua isolat bakteri probiotik P₁ dan P₅ mengalami kenaikan berat badan sekitar 4-5 g, dengan rambut berwarna putih, tidak rontok, dan tenang. Sedangkan, kelompok perlakuan yang tidak diberi perlakuan (kontrol positif) mengalami kenaikan berat badan yang baik sekitar 7-9 g, dengan keadaan rambut berwarna putih, tidak rontok, dan tenang.

Agustina (2014) memaparkan, bahwa logam berat yang terdapat di dalam tubuh dapat menghambat kerja dan kemampuan enzim untuk berikatan dengan grup yang mengandung sulfur di dalam molekul enzim dan dinding sel. Kerusakan tubuh yang disebabkan logam berat, dalam hal ini merkuri, bersifat permanen dan tidak dapat disembuhkan. Toksisitas logam merkuri dapat menyebabkan timbulnya kerusakan jaringan, terutama jaringan detoksikasi (hati) dan ekskresi (ginjal).

Kerusakan fungsi hati biasanya ditandai dengan adanya perubahan warna kulit menjadi kuning. Menurut Putranto (2011), kerusakan hati merupakan dampak dari keracunan kronis logam merkuri, sedangkan keracunan akut ditandai dengan gangguan pada sistem saraf pusat, dengan kriteria diagnosis seperti kerusakan motorik, abnormalitas sensorik, serta kemunduran psikologik. Sifat toksis yang akut dan kronis dapat menimbulkan efek genetik maupun teratogenik.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa isolat probiotik asal tape singkong berpotensi sebagai produk antidotum logam berat merkuri (Hg) dengan perlakuan paling baik pada pemberian isolat probiotik P₁ yang mampu mendetoksifikasi logam merkuri sebesar 93,7%.

V.2 Saran

Sebaiknya perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan logam berat selain merkuri serta penggunaan bakteri probiotik dari isolat yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Adleend, 2015. **Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih *Rattus norvegicus* Setelah Pemberian Meloxicam Dosis Toksik.** *Skripsi.* Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Agustina, T., 2014. **Kontaminasi Logam Berat pada Makanan dan Dampaknya pada Kesehatan.** *Jurnal Teknoba.* 1 (1) : 53-65.
- Akbar, B., 2010. **Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas.** Penerbit Adabia Press. Jakarta.
- Amelia, T. F., A. Baehaki, dan Herpandi, 2016. **Aktivitas Reduksi Merkuri pada Bakteri yang Diisolasi dari Air dan Sedimen di Sungai Musi.** *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan.* 5 (1) : 94-106.
- Astini, W., M. A. A. Arif, dan S. Mulyati, 2014. **The Potential of Commercial Probiotic to *Broiler's* Weight Gain, Feed Consumption and Feed Conversion of Broiler.** *Jurnal Agroveteriner.* 2 (2) : 97-103.
- Fuller, R., 1989. **A Review Probiotic in Man and Animals.** *Journal of Applied Bacteriology.* 66 : 365-378.
- Hakim, K., 2018. **Analisis Kandungan Merkuri (Hg) pada Air Sumur Gali Masyarakat di Sekitar Pengolahan Limbah Tambang Emas Tradisional Desa Banua Rakyat Kecamatan Naga Juang Kabupaten Mandailing Natal Tahun 2018.** *Skripsi.* Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Haryati, T., 2011. **Probiotik dan Prebiotik sebagai Pakan Imbuhan Nonruminansia.** *Jurnal Wartazoa.* 21 (3) : 125-132.
- Hasanah, H., A. Jannah, dan A. G. Fasya, 2012. **Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol Tape Singkong (*Mannihot Utilissima* Pohl).** *Jurnal Alchemy.* 2 (1) : 68-79.
- Krinke, G. J., 2000. **The Handbook of Experimental Animals: The Laboratory Rat.** Academic Press. London.
- Khotimah, K. dan E. Zulaika, 2014. ***Azotobacter* sebagai Bioakumulator Merkuri.** *Jurnal Sains Pomits.* 3 (2).
- Lestaris, T., 2010. **Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Keracunan Merkuri (Hg) pada Penambang Emas Tanpa Ijin (PETI) di Kecamatan Kurun, Kabupaten Gunung Mas, Kalimantan Tengah.** *Tesis.* Universitas Diponegoro. Semarang.

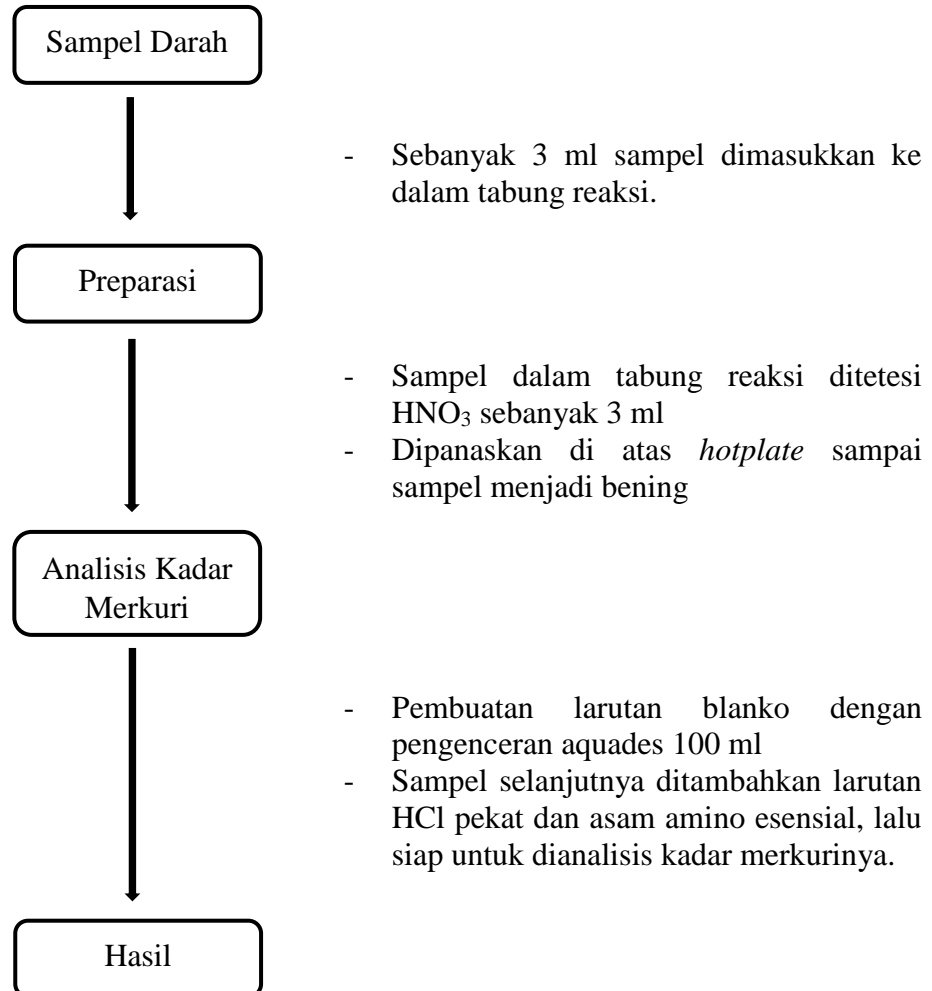
- Lokapirnasari, W. P., A. Rahmawati, dan H. Eliyani, 2016. **Potensi Penambahan Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus rhamnosus* terhadap Konsumsi Pakan dan Konversi Pakan Ayam Pedaging.** *Jurnal Agroveteriner*. 5 (1) : 43-49.
- Masdarini, L., 2011. **Manfaat dan Keamanan Makanan Fermentasi untuk Kesehatan (Tinjauan dari Aspek Ilmu Pangan).** *Jurnal FTK UNDIKSHA*. 8 (1) : 53-58.
- Mirdat, Y. S. Patadungan, dan Isrun, 2013. **Status Logam Berat Merkuri (Hg) dalam Tanah pada Kawasan Pengolahan Tambang Emas di Kelurahan Poboya, Kota Palu.** *Jurnal Agrotekbis*. 1 (2) : 127-134.
- Nascimento, A. M. A. dan E. C. Souza, 2003. **Operon *mer*: Bacterial Resistance to Mercury and Potential for Bioremediation of Contaminated Environments.** *Genetics and Molecular Research*. 2 (1) : 92-101.
- Pambudi, R., 2017. **Perbedaan Panjang serta Berat Tubuh Fetus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague-Dawley terhadap Pemberian Asam Folat pada Periode Kehamilan yang Berbeda.** *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Pato, U., 2003. **Potensi Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Dadih untuk Menurunkan Resiko Penyakit Kanker.** *Natur Indonesia*. 5 (2) : 162-166.
- Pawiroharsono, S., 2007. **Potensi Pengembangan Industri dan Bioekonomi Berbasis Makanan Fermentasi Tradisional.** *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 5 (2) : 85-91.
- Purwandhani, S. N. dan E. S. Rahayu, 2007. **Isolasi dan Seleksi *Lactobacillus* yang Berpotensi Sebagai Agensia Probiotik.** *Agritech*. 23 (2) : 67-74.
- Putranto, T. T., 2011. **Pencemaran Logam Berat Merkuri (Hg) pada Air Tanah.** *Jurnal Teknik*. 32 (1) : 62-71.
- Putri, W. D., Haryadi, D. W. Marseno, dan M. N. Cahyanto, 2012. **Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Amilolitik Selama Fermentasi Growol, Makanan Tradisional Indonesia.** *Jurnal Teknologi Pertanian*. 13 (1) : 52-60.
- Rondonuwu, G., B. J. Kepel, dan B. Widhi, 2014. **Gambaran Bakteri Resistensi HgCl₂ dan Fenil Merkuri yang Diambil dari Feses, Urin, dan Karang Gigi pada Individu yang Tinggal di Daerah Pesisir Pantai Desa Kema II.** *Jurnal e-Biomedik*. 2 (3).
- Santi, L. P. Dan G. H. Goenadi, 2009. **Potensi *Pseudomonas fluorescens* Strain KTSS untuk Bioremediasi Merkuri di Dalam Tanah.** *Jurnal Menara Perkebunan*. 77 (2) : 110-124.

- Shofi, M., 2017. **Pengaruh Logam Berat Merkuri (Hg) terhadap Perkecambahan Biji Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.).** *Jurnal Wiyata*. 4 (1) : 84-89.
- Sompie, I. P. R., B. J. Kepel, dan F. Budiarmo, 2016. **Isolasi Bakteri Resisten Merkuri pada Urin Pasien dengan Tumpatan Amalgam di Puskesmas Paniki Bawah.** *Jurnal Biomedik*. 4 (2).
- Sriwahyuni, 2017. **Pengaruh Suplementasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Dangke Isolat *Enterococcus faecium* dan *Lactobacillus plantarum* terhadap Survivalitas Mencit *Mus musculus* ICR Jantan yang Ditantang dengan *Escherichia coli*.** *Skripsi*. UIN Alauddin. Makassar.
- Suckow, M. A., S. H. Weisbroth, and C. L. Franklin, 2005. **The Laboratory Rat.** *American College of Laboratory*. Animal Medicine Series.
- Sujaya, *et al.*, 2016. **Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Isolat Susu Segar Sapi Bali.** *Jurnal Veteriner*. 17 (2) : 155-167.
- Suryani, Y., 2011. **Bioremediasi Limbah Merkuri dengan Menggunakan Mikroba pada Lingkungan yang Tercemar.** 5 (1-2).
- Tambunan, A. R., 2016. **Karakteristik Probiotik Berbagai Jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas.** *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Trisna, W. N., 2012. **Identifikasi Molekuler dan Pengaruh Pemberian Probiotik Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Dadih dari Kabupaten Sijunjung terhadap Kadar Kolesterol Daging pada Itik Pitalah Sumber Daya Genetik Sumatra Barat.** Universitas Andalas. Padang.
- Widyastuti, Y., 2008. **Fermentasi Silase dan Manfaat Probiotik Silase bagi Ruminansia.** *Jurnal Media Peternakan*. 31 (3) : 225-232.
- Widyawati, W., 2007. **Efek Ekstrak Daun Sambung Nyawa *Gynura procumbens* (Lour) Merr. Terhadap Kadar Metil Merkuri Darah dan Karakteristik Eritrosit Tikus Putih *Rattus norvegicus* L. Paska Pemaparan Metil Merkuri Klorida.** *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Wulandari, F., 2008. **Uji Kadar Protein Tape Singkong (*Mannihot utilissima*) dengan Penambahan Sari Buah Nanas (*Ananas comosus*).** *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Yusmarini, Y., U. Pato, V. S. Johan, A. Ali, dan K. Kusumaningrum, 2017. **Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Amilolitik dari Industri Pengolahan Pati Sagu.** *Jurnal Agritech*. 37 (1) : 95-100.

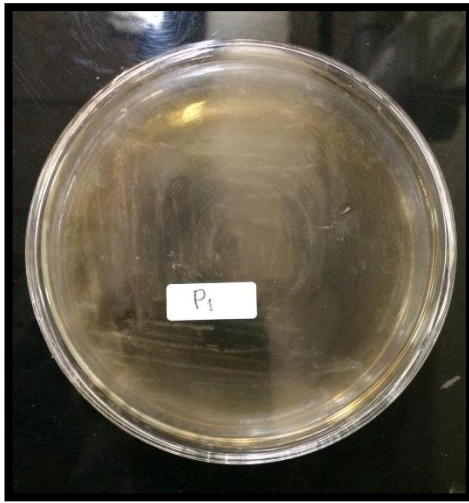
Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian



**Lampiran 2. Skema Kerja Analisis kadar Merkuri (Hg) dengan AAS
(Atomic Absorption Spectrofotometri)**



Lampiran 3. Gambar Stok Bakteri Probiotik Kode P₁ dan Kode P₅



Bakteri Probiotik Kode P₁



Bakteri Probiotik Kode P₅



Stok Bakteri Probiotik

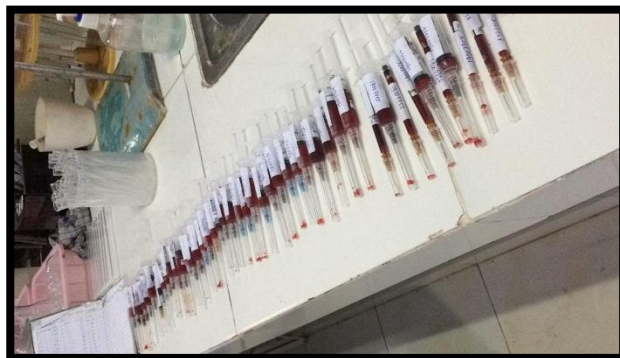
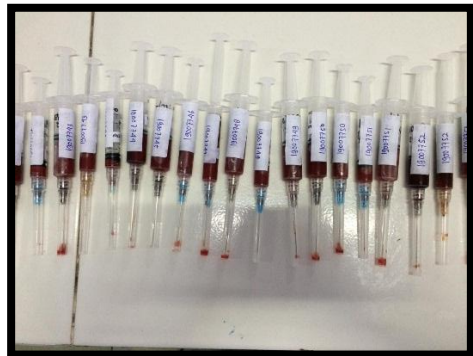
Lampiran 4. Gambar Perlakuan Pada Hewan Uji dan Pengambilan Sampel Darah



Pemberian Probiotik



Pengambilan Sampel Darah



Sampel Darah

Lampiran 5. Proses Pengerjaan Analisis Kadar Merkuri (Hg) dengan Menggunakan AAS (*Atomic Absorbtion Spectrofotomerti*)



Destruksi Sampel



Atomic Absorption Spectrofotometri (AAS)

Lampiran 6. Tabel Hasil Analisis Logam Merkuri (Hg) dalam Sampel Darah

NO	PERLAKUAN	HASIL (ppm)
1	Hg	0,0232
		0,3600
		<0,0005
2	Hg + P1	<0,0005
		0,0039
		0,0203
3	Hg + P5	<0,0005
		0,0243
		0,0037
4	Hg + (P1 + P5)	0,0189
		<0,0005
		0,1460
5	Tanpa Perlakuan	0,0080
		0,0053
		0,0075

Lampiran 7. Tabel Hasil ANOVA dan Hasil Uji DMRT Taraf 5%

Analysis of Variance (ANOVA)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.033 ^a	4	.008	.871	.514
Intercept	.026	1	.026	2.725	.130
Perlakuan	.033	4	.008	.871	.514
Error	.094	10	.009		
Total	.153	15			
Corrected Total	.127	14			