



Populasi bakteri pada Feses Neonatus: Penelitian pendahuluan

Bacterial Populations in Neonatal Feces: A Preliminary study

Riyani Wikaningrum, Jekti T. Rochani, Titiek Djannatun, Dian Widiyanti, Abdul Rahim Pane*)

Department of Microbiology, YARSI UNIVERSITY School of Medicine, Jakarta

*Late author

KEYWORDS *intestinal microflora; neonates*

ABSTRACT *Recent published data have outlined a relationship between the composition of the intestinal microflora and allergic inflammation, autoimmunity, chronic bowel inflammation, psychiatric, cognitive and behavioral disturbances. Factors influencing intestinal microflora are environment, genetic predisposition, diet, age, diseases, drugs, stressor. This preliminary study is to establish local reference of microbial flora in neonates. This study included samples taken from 20 neonates, age 1 – 7 days, from a private hospital in Jakarta. All samples were sent to microbiology laboratory without transport media and processed immediately. Bacteriological cultures for aerob and anaerob bacteria were performed according to the standard methods. Aerob and anaerob bacterial species were isolated from all samples, ranged 2 – 5 species per sample. Enterobacteriaceae were found to be dominant isolates (25% - 75%); followed by Streptococcus anhaemolyticus (60%), Staphylococcus epidermidis (40%), Staphylococcus aureus (5%), Clostridium difficile (5%), Bacteroides fragilis (5%), Bifidobacterium sp. (10%), Lactobacillus sp. (5%) and yeast (5%). These data indicated that aerob and facultative anaerob bacteria were predominant in neonates. However Bifidobacterium, Lactobacillus and Clostridium difficile could be found. Further studies are needed to confirm this finding using larger number of samples and involving various age group.*

Komunitas mikroba yang terdapat dalam traktus digestivus ditandai dengan kepadatan populasi bakteri yang tinggi dengan variasi jenis bakteri serta interaksi yang rumit di antara mereka. Telah dilaporkan bahwa di kolon manusia dewasa dapat ditemui lebih dari 10^{11} sel bakteri/gram feses dan terdiri atas kurang lebih 400 spesies bakteri yang berbeda. Perlu dicatat bahwa jumlah ini diperoleh dari sampel berupa feses dan mungkin tidak mencerminkan jumlah sebenarnya mikrobiota usus, terutama dalam variasi spesies dan peran relatif mikrobiota tersebut. Populasi mikrobiota dalam usus manusia bersifat dinamik dan dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain faktor genetik, lingkungan diet, umur, obat-obatan dan penyakit (Mitsuoka, 1989; Hopkins *et al.*, 2001; Hopkins and Macfarlane, 2002).

Data mutakhir telah menerangkan hubungan antara flora normal usus manusia dengan beberapa penyakit antara lain alergi, autoimun, kelainan pada sistem gastrointestinal baik akut maupun kronis, kelainan neurologis dan perilaku, serta kelainan sistemik lainnya (Sandler *et al.*, 2000; Kirjavainen *et*

al., 2002; Wakefield *et al.*, 2002; Bradesi *et al.*, 2003; Kalliomäki and Isolauri, 2003). Mikroflora bayi umumnya dianggap menyerupai orang dewasa sesudah berumur dua tahun, walaupun jumlah dan jenis bakteri fakultatif anaerob telah dilaporkan lebih banyak dari pada orang dewasa (Hopkins *et al.*, 2001). Fetus dalam uterus bersifat steril. Walaupun demikian, selama dan sesudah proses persalinan bayi terpapar bakteri yang berada di jalan lahir maupun lingkungannya. Mulai saat inilah mikrobiota normal terbentuk dan berubah sesuai dengan umur. Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk mendapat data lokal tentang pola populasi bakteri pada neonatus.

Correspondence:

Dr. Hj. Riyani Wikaningrum, DMM, MSc., Department of Microbiology, YARSI UNIVERSITY School of Medicine, Jakarta, Jalan Letjen. Suprpto, Cempaka Putih, Jakarta Pusat 10510, Telephone 021-4206674 – 76 Ext. 503/504, Facsimile 021-4244574, Email: riyani@centrin.net.id

BAHAN DAM CARA KERJA

Bahan

Dalam penelitian ini diambil 20 sampel feses yang diperoleh dari bayi berumur 1 sampai 7 hari yang dilahirkan di salah satu Rumah sakit Bersalin Swasta golongan menengah atas di Jakarta. Feses yang diambil adalah feses yang keluar sesudah bayi mendapatkan minum susu. Bahan diambil secara aseptik dengan wadah feses (Sarsted, Australia). Bahan segera ditransport, tidak melebihi 12 jam, untuk segera diproses di laboratorium.

Cara Kerja

Feses dikultur secara aerob dan anaerob. Sebanyak 1 gram feses dilarutkan dalam 9 ml *Brain Heart Infusion* (Difco) untuk menjadi *stock sample* (bahan induk). Sebanyak 1 ml bahan induk dimasukkan dalam media Thioglycolate yang dikeram dalam suasana aerob dan anaerob. Terhadap bahan induk dilakukan pengenceran lanjutan untuk kemudian ditanam pada media anaerob berupa CCFA (Difco) dan Brucella Agar Darah (Difco) dengan dan tanpa Kanamycin 70 µg/ml; dan perbenihan aerob berupa agar darah, agar Rogosa (oxid), agar Endo (Difco), agar Mc Conkey (Difco), MSA (Difco) dan agar TCBS (Difco).

Setelah inkubasi aerob selama 24 jam dan anaerob selama 48 jam pada suhu 37°C, koloni yang tumbuh dihitung secara kualitatif dan dilakukan identifikasi dengan uji biokimia.

HASIL

Data klinis bayi

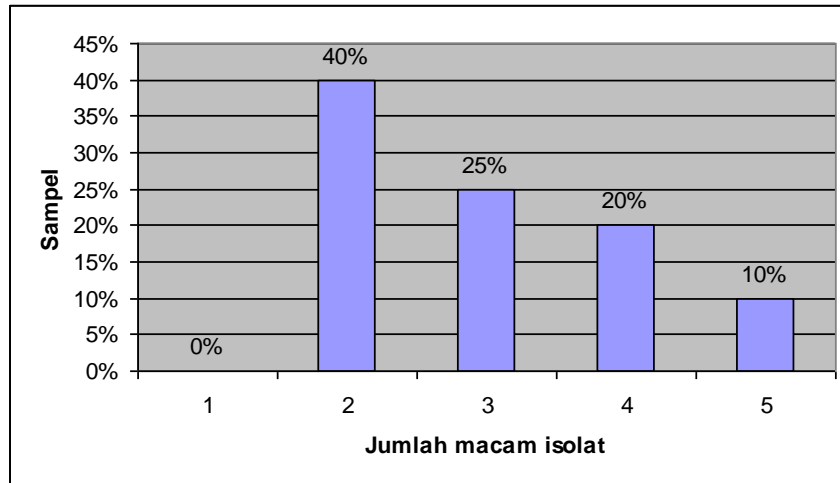
Semua bayi dilahirkan cukup bulan, lahir spontan 19 (95%) dan satu lahir secara Sectio Caesaria primer. Semua bayi tidak mendapatkan Air Susu Ibu sampai saat sampel feses diambil. Jenis kelamin bayi, laki-laki 12 (60%) dan perempuan 8 (40%).

Mikroflora feses

Bakteri bersifat aerob maupun anaerob serta yeast dapat diisolasi dari sampel yang diperoleh. Tabel 1 menggambarkan angka kolonisasi (%) dari bakteri yang dapat diisolasi. Semua *Streptococcus* yang dapat diisolasi bersifat toleran terhadap suasana asam, tumbuh pada media Rogosa. *Enterobacter agglomerans* yang didapat dari 5 sampel diisolasi dari bayi yang lahir pada hari yang sama. Lebih dari satu jenis mikroba ditemukan dalam sebagian besar sampel dengan rentang 0 - 5 jenis bakteri dan yeast pada tiap sampel (Gambar 1)

Tabel 1. Angka kolonisasi mikroflora feses neonatus (N=20)

No	Bakteri	Jumlah Isolat	Angka Kolonisasi (%)
Bakteri aerob & anaerob fakultatif			
1	<i>S. anhaemolyticus</i>	12	60%
2	<i>S. epidermidis</i>	8	40%
3	<i>S. aureus</i>	1	5%
4	<i>E. coli</i>	15	75%
5	<i>Klebsiella sp.</i>	10	50%
6	<i>E. agglomerans</i>	5	25%
Bakteri anaerob			
7	<i>C. difficile</i>	1	5%
8	<i>B. fragilis</i>	1	5%
9	<i>Bifidobacterium</i>	2	10%
10	<i>Lactobacillus sp.</i>	1	5%
Lain-lain			
11	Yeast	1	5%



Gambar 1. Jenis isolat dalam sampel feses neonatus.

Keterangan:1= 1 macam isolat, 2=2 macam isolat, 3= 3 macam isolat, 4= 4 macam isolat, 5=5 macam isolat.

PEMBAHASAN

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mempelajari jenis, peran mikroflora usus manusia dalam keadaan sehat dan sakit. Dinamika mikroflora pada neonatus telah direview oleh Mackie *et al.*, (1999). Hasil penelitian pendahuluan ini sesuai dengan publikasi yang ada, baik yang dilakukan di negara maju maupun negara berkembang (Mackie *et al.*, 1999), yaitu pada umur satu hari telah dapat ditemukan berbagai bakteri atau yeast dari feses neonatus, walaupun populasi sampel yang dipakai berasal dari rumah sakit swasta kelas menengah ke atas. Bakteri koliform dilaporkan mendominasi flora normal usus bayi yang tidak mendapatkan air susu ibu (ASI), melainkan mendapatkan susu formula (Mitsuoka 1989; Mackie *et al.*, 1999). Pada penelitian ini angka kolonisasi oleh bakteri koliform mencapai 75%. Kolonisasi bakteri ini didominasi oleh golongan *Streptococcus* dan coliform. Bakteri *Streptococcus* yang bersifat *acid tolerant* merupakan penemuan yang di luar harapan kami. Stolberg *et al.*, 1982 (Wakefield *et al.*, 2002) melaporkan jenis *Streptococcus* ini diduga berperan dalam terjadinya kelainan neurologis dan psikiatri pada penderita *short bowel syndrome* dan pasien yang menjalani operasi *by pass* intestinum untuk mengatasi kegemukan. Peran bakteri ini pada neonatus normal perlu dipelajari lebih lanjut.

Clostridium difficile dapat ditemukan pada satu bayi (5%), angka ini tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan di Indonesia sebelumnya (Sunarti, 1996). Kolonisasi oleh bakteri anaerob, *Clostridium*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium* dan

Lactobacillus, cukup rendah, berkisar antara 5% -10%; walaupun *Bifidobacterium* telah dapat ditemukan pada bayi berumur 1 hari. *Lactobacillus* dapat diisolasi pada bayi berumur 7 hari. Ini sesuai dengan laporan sebelumnya bahwa *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* dijumpai pada neonatus mulai umur tiga atau 4 hari (Mitsuoka, 1989). *Bacteroides fragilis* ditemui pada satu sampel dari bayi berumur 1 hari. *B. fragilis* dilaporkan berperan dalam pematangan sistem kekebalan mukosa (Grönlund *et al.*, 2000).

KESIMPULAN

Dari penelitian pendahuluan ini dapat disimpulkan bahwa bakteri yang bersifat aerob dan fakultatif anaerob mendominasi flora usus neonatus, walaupun dapat pula ditemukan bakteri bersifat anaerob dan mikroaerofilik, *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus*, serta *Clostridium difficile*. Diperlukan penelitian dengan sampel yang lebih banyak dan melibatkan umur yang berbeda-beda.

KEPUSTAKAAN

- Bradesi S, JA McRoberts, PA Anton, EA Mayer 2003. "Inflammatory Bowel Disease and Irritable Bowel Syndrome: Separate or Unified?" *Curr Opin Gastroenterol* 9(4): 336-342.
- Grönlund M-M, H Arvilommi, P Kero, O.P Lehtonen, E Isolauri 2000. "Importance of intestinal colonisation in the maturation of humoral immunity in early infancy: a prospective follow up study of healthy infants aged 0-6 months." *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 83: F186-F192.
- Hopkins MJ and GT Macfarlane 2002. "Changes in predominant bacterial populations in human faeces with age and with *Clostridium difficile* infection." *J Med Microbiol* 51: 448-454.

- Hopkins MJ, R Sharp, GT Macfarlane 200. "Age and disease related changes in intestinal bacterial populations assessed by cell culture, 16S rRNA abundance, and community cellular fatty acid profiles." Gut **48**: 198-205.
- Kalliomäki M and E Isolauri 2003. "Role of Intestinal Flora in Development of Allergy." Curr Opin Allergy Clin Immunol **3**(1): 15-20.
- Kirjavainen PV, T Arvola, SC Salminen, E Isolauri 2002. "Aberrant composition of gut microbiota of allergic infants: a target of bifidobacterial therapy at weaning?" Gut **51**: 51-55.
- Mackie RI, A Sghir, Gaskin 1999. "Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract." Am J Clin Nutr **69**(suppl): 1035S-45S.
- Mitsuoka T 1989. Microbe in the Intestine Our Lifelong Partners. Japan, Yakullt Honsa Co., Ltd.
- Sandler RH, SM Finegold, ER Bolte, Buchanan, SCP Maxwell, ML Vasanen, MN Nelson, HM Waxter 2000. "Short-Term Benefit From Oral Vancomycin Treatment of Regressive-Onset Autism." J Child Neurol **15**: 429-435.
- Sunarti LS 1996. Isolasi dan Deteksi Toksin Clostridium Difficile dengan Koaglutinasi Lateks dan Uji Sitotoksitas dengan Biakan sel BHK-21 pada Anak Berumur Kurang dari 1 Tahun yang Dirawat Di Sebuah Rumah Sakit di Jakarta. Program Studi Ilmu Biomedik. Jakarta, Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia: 57.
- Wakefield AJ, JM Puleston, SM Montgomery, A Antony, JJ O'leary, CH Murch 2002. "Review article: the concept of enterocolonic encephalopathy, autism and opioid receptor ligands." Aliment Pharmacol Ther(16): 663-674.