



**UNIVERSITI PUTRA MALAYSIA**

**PERENCATAN TERHADAP PERTUMBUHAN *ESCHERICHIA COLI* 2520 (USCC) OLEH LAKTOFERIN DAN *BIFIDOBACTERIUM ASTEROIDES***

**ASWIR ABD.RASHED**

**FPSK (M) 1998 1**

**PERENCATAN TERHADAP PERTUMBUHAN *ESCHERICHIA COLI* 2520  
(USCC) OLEH LAKTOFERIN DAN *BIFIDOBACTERIUM ASTEROIDES***

Oleh

**ASWIR ABD. RASHED**

Tesis ini Disediakan Bagi Memenuhi Syarat Memperolehi Ijazah Master Sains  
dari Fakulti Perubatan dan Sains Kesihatan  
Universiti Putra Malaysia

April, 1998



Buat mak dan keluarga tersayang



## PENGHARGAAN

Saya memanjatkan kesyukuran kehadiran Illahi kerana dengan izinNya saya dapat menyiapkan tesis ini. Saya bersyukur kerana diberikan kekuatan untuk meneruskan penyelidikan ini walaupun terlalu banyak cabaran dan dugaan yang ditemphi sepanjang tempoh pengajian ini.

Saya mengucapkan jutaan terima kasih kepada Prof. Madya Dr. Maznah Ismail yang banyak memberi nasihat dan tunjuk ajar selaku pengerusi kajian ini. Juga buat Dr. Mohd. Yazid Abdul Manap dan Dr. Rokiah Mohd. Yusof yang turut memberikan nasihat dan tunjuk ajar yang berguna.

Berbanyak ucapan terima kasih buat Kak Siti, Abang Simon, Ms Kalaivaani, Mr. Formuzul Ilaque, Kak Maznah, Nona, Kak Norwati, Hisham, Asilah, Kak Aminah, En. Onn dan ramai lagi yang secara langsung atau tidak langsung membantu menjadikan projek penyelidikan ini berjalan lancar.

Paling istimewa buat mak tersayang, Nyah, Yong dan Abang, tanpa bantuan dan sokongan mereka, penyelidikan ini belum tentu akan berjaya dan belum pasti projek ini dapat diteruskan sampai ke penghujungnya. Buat abah yang diingati, kupohon doa agar rohmu dicucuri rahmat oleh Allah S. W. T.



## ISI KANDUNGAN

mukasurat

PENGHARGAAN	iii	
SENARAI JADUAL	ix	
SENARAI PLAT	xi	
SENARAI RAJAH	xii	
SENARAI SINGKATAN	xiii	
ABSTRAK	xiv	
ABSTRACT	xvii	
<b>BAB</b>		
I	Pengenalan	1
II	Sorotan Literatur	
	Diarea	4
	Perkaitan Diarea dan Malnutrisi	7
	Pengambilan Makanan	10
	Penyerapan	12
	Metabolisme Tubuh	13
	Kehilangan Langsung	14
	Mikroorganisma Penyebab Diarea	15
	Laktoferin	20
	Laktoferin Susu	20
	Fungsi Biologi Laktoferin	21
	Tapak Pengikatan Ferum pada Laktoferin	25
	Kepentingan Ferum pada Mikroorganisma	26
	Degradasi Proteolitik Laktoferin dan Pengaruhnya Terhadap Kehidupan Di dalam Salur Gastrosus	27



Bifidobakteria .....	27
Morfologi .....	29
Fisiologi .....	30
Ciri-ciri Biokimia .....	32
Struktur Dinding Sel Bifidobakteria .....	33
Hubungkait antara Bifidobakteria dan Ferum .....	34
Bifidobakteria dan Kesihatan Tubuh .....	35
Pengurusan Diet bagi Mengawal Diarea .....	36
<b>III KAJIAN PERENCATAN PERTUMBUHAN <i>E. COLI</i> 2520 (USCC) SECARA <i>IN VITRO</i></b>	
Pengenalan .....	39
Perkaedahan .....	40
Bahan-bahan .....	40
Pemencilan Laktoferin .....	45
SDS-PAGE .....	46
PAGE .....	47
Penyediaan Apo-laktoferin .....	48
Penyediaan Kultur 24 jam dan 48 jam .....	48
Penyediaan DME .....	49
Penyediaan Bubur Nasi .....	49
Penentuan pH .....	50
Penentuan Asiditi .....	51
Penentuan Koloni .....	51
Kajian Kadar Pertumbuhan <i>E. coli</i> 2520 dan <i>B. asteroides</i> Di dalam Medium TPY .....	52

Penentuan Kadar Pertumbuhan <i>E. coli</i> 2520 dan <i>B. asteroides</i> Di dalam Bubur Nasi	52
Penentuan Kadar Pertumbuhan <i>B. asteroides</i> Di dalam Bubur Nasi yang Mengandung Kepekatan Tertentu Laktoferin dan Apo-laktoferin	52
Penentuan Kadar Perencatan Pertumbuhan <i>E. coli</i> 2520 (USCC) oleh <i>B. asteroides</i>	53
Penentuan Kadar Perencatan Pertumbuhan <i>E. coli</i> 2520 oleh <i>B. asteroides</i> , Laktoferin dan Apo-laktoferin	53
Penentuan Unsur Ferum Di dalam Beras	54
Kajian Struktur Dinding Sel Bakteria	55
Ujian Statistik	55
<b>Hasil dan Perbincangan</b>	
Pemencilan Laktoferin dan Penentuan Ketulenan Laktoferin dan Apo-laktoferin	56
Jumlah Koloni Bakteria Di dalam Bubur Nasi	57
Penentuan Unsur Ferum Di dalam Beras	57
Kadar Pertumbuhan <i>B. asteroides</i> dan <i>E. coli</i> Di dalam Media Ekstrak TPY	61
Kadar Pertumbuhan <i>B. asteroides</i> dan <i>E. coli</i> Di dalam Bubur Nasi Mengandung dan Tanpa Mengandung DME	63
Kadar Perencatan Pertumbuhan <i>E. coli</i> oleh <i>B. asteroides</i> Di dalam Bubur Nasi	68
Kadar Pertumbuhan <i>B. asteroides</i> Di dalam Bubur Nasi yang Mengandung Laktoferin dan Apo-laktoferin	71
Kadar Pertumbuhan <i>E. coli</i> Di dalam Bubur Nasi yang Mengandung Laktoferin dan Apo-laktoferin	73
Kadar Pertumbuhan <i>E. coli</i> Di dalam Bubur Nasi yang Mengandung <i>B. asteroides</i> , Laktoferin dan Apo-laktoferin	75
Tindakan <i>B. asteroides</i> dan Laktoferin Terhadap <i>E. coli</i> Melalui Analisis TEM	77

IV	KAJIAN PERENCATAN PERTUMBUHAN <i>E. COLI</i> 2520 (USCC) SECARA <i>IN VIVO</i>	
	Pengenalan	83
	Perkaedahan	84
	Bahan-bahan	84
	Prosidur Untuk Bioasai	86
	Penentuan Berat Feses dan Salur Gastrousus	87
	Penentuan Koloni Bakteria	87
	Prosidur Penyediaan Konjugat Peroksidase-IgG bagi ELISA	89
	Kaedah ELISA Bagi Penentuan Kepekatan Laktoferin Di dalam Feses Mencit	90
	Penentuan Tapak Pelekatan <i>E. coli</i> Pada Salur Gastrousus Mencit Menggunakan SEM (JSM 6400, Japan)	91
	Ujian Statistik	91
	Hasil dan Perbincangan	
	Penentuan Keupayaan Tindakan <i>B. asteroides</i> , Laktoferin dan Apo-laktoferin Terhadap Kadar Pertumbuhan <i>E. coli</i> .....	92
	Penentuan Kepekatan Laktoferin Di dalam Feses Mencit	108
	Penentuan Tapak Pelekatan <i>E. Coli</i> Pada Salur Gastrousus Mencit Menggunakan SEM	111
V	PERBINCANGAN UMUM	116
	<b>BIBLIOGRAFI</b>	121
	<b>LAMPIRAN</b>	
	LAMPIRAN A	130
	LAMPIRAN B	131
	LAMPIRAN C	142
	LAMPIRAN D	143



**VITA** ..... 144



## SENARAI JADUAL

Jadual		mukasurat
1	Kematian yang Disahkan dan Diperiksa oleh Doktor Mengikut Sebab Tertentu, Malaysia, 1993	5
2	Kematian Mengikut Sebab yang Disahkan dan Diperiksa oleh Doktor bagi Kumpulan Umur, Malaysia, 1993	6
3	Nilai Keperluan Protein dan Tenaga Akibat Jangkitan Diarea	9
4	Jumlah Koloni Bakteria di dalam Bubur Nasi	60
5	Perubahan Nilai pH Bubur Nasi dengan Kehadiran <i>B. asteroides</i> dan <i>E. coli</i>	66
6	Perubahan Asiditi Bubur Nasi dengan Kehadiran <i>B. asteroides</i> dan <i>E. coli</i>	66
7	Nilai pH Bubur Nasi Mengandungi <i>B. asteroides</i> dan <i>E. coli</i>	69
8	Nilai Asiditi Bubur Nasi Mengandungi <i>B. asteroides</i> dan <i>E. coli</i>	69
9	Kaedah Pembahagian Mencit Mengikut Spesifikasi Perlakuan	87
10	Perubahan Berat Feses (g) Mencit Teraruh Diarea bagi Pelbagai Perlakuan	93
11	Berat Usus Mencit (g) Teraruh Diarea bagi Pelbagai Perlakuan	94
12	Nilai pH Feses Mencit Teraruh Diarea bagi Pelbagai Perlakuan	99
13	Asiditi Feses Mencit Teraruh Diarea bagi Pelbagai Perlakuan <sup>c</sup>	101
14	Nilai pH Feses Di dalam Salur Gastrosus Mencit Teraruh Diarea bagi Pelbagai Perlakuan	106
15	Asiditi Feses Di dalam Salur Gastrosus Mencit Teraruh Diarea bagi Pelbagai Perlakuan	107
16	Kepekatan Laktoferin Di dalam Feses Mencit	109
17	Kadar Pertumbuhan <i>B. asteroides</i> dan <i>E. coli</i> Di dalam Media TPY (Trypticase-Peptone Yeast)	132
18	Kadar Pertumbuhan <i>B. asteroides</i> dan <i>E. coli</i> Di dalam Bubur Nasi	133



Jadual	mukasurat
19	Kadar Perencatan Pertumbuhan <i>E. coli</i> oleh <i>B. asteroides</i> Di dalam Bubur Nasi ..... 134
20	Kadar Pertumbuhan <i>B. asteroides</i> Di dalam Bubur Nasi yang Mengandungi Laktoferin atau Apo-laktoferin ..... 135
21	Kadar Pertumbuhan <i>E. coli</i> Di dalam Bubur Nasi yang Mengandungi Laktoferin atau Apo-laktoferin ..... 136
22	Kadar Pertumbuhan <i>E. coli</i> Di dalam Bubur Nasi yang Mengandungi <i>B. asteroides</i> , Laktoferin dan Apo-laktoferin ..... 137
23	Jumlah Koloni <i>E. coli</i> Di dalam Feses Mencit Teraruh Diarea bagi Pelbagai Perlakuan ..... 138
24	Jumlah Koloni Bifidobakteria Di dalam Feses Mencit Teraruh Diarea bagi Pelbagai Perlakuan ..... 139
25	Jumlah Koloni <i>E. coli</i> Di dalam Salur Gastrousus Mencit Teraruh Diarea bagi Pelbagai Perlakuan ..... 140
26	Jumlah Koloni Bifidobakteria Di dalam Salur Gastrousus Mencit Teraruh Diarea bagi Pelbagai Perlakuan ..... 141



## SENARAI PLAT

Plat		mukasurat
1	Penentuan Ketulenan Laktoferin Menggunakan SDS-PAGE	59
2	Penentuan Ketulenan Apo-laktoferin Menggunakan SDS-PAGE (70K)	59
3	Struktur <i>B asteroides</i> Diperhatikan Menggunakan TEM	78
4	Struktur <i>E. coli</i> 2520 (USCC) Diperhatikan Menggunakan TEM (80K)	79
5	Struktur <i>E. coli</i> 2520 (USCC) yang Ditindakkan oleh <i>B. asteroides</i> Diperhatikan Menggunakan TEM (80K)	80
6	Struktur <i>E. coli</i> 2520 (USCC) yang Ditindakkan oleh Apo-laktoferin Diperhatikan Menggunakan TEM (80K)	81
7	Struktur <i>E. coli</i> 2520 (USCC) yang Ditindakkan oleh Laktoferin Diperhatikan Menggunakan TEM (70K)	82
8	<i>E. coli</i> 2520 (USCC) yang Kelihatan Mengkolonisasi Salur Gastrousus Mencit Diperhatikan Menggunakan SEM (Pembesaran 6000 x)	112
9	<i>E. coli</i> 2520 (USCC) Berupaya Disingkirkan oleh <i>B. asteroides</i> dari Salur Gastrousus Mencit Diperhatikan Menggunakan SEM (Pembesaran 6000 x)	113
10	<i>E. coli</i> 2520 (USCC) Berupaya Disingkirkan atau Direncat oleh Apo-laktoferin dari Salur Gastrousus Mencit Diperhatikan Menggunakan SEM (Pembesaran 6000 x)	114
11	Tindakan Laktoferin Terhadap Pengkolonian <i>E. coli</i> 2520 (USCC) Di dalam Salur Gastrousus Mencit Diperhatikan Menggunakan SEM (Pembesaran 6000 x)	115



## SENARAI RAJAI

Rajah		mukasurat
1	Mekanisme Penyakit Diarea	11
2	Mekanisme Tindakan Toksin Kolera dan Toksin Labil Haba	19
3	Mekanisma Tindakan Enterotoksin <i>E coli</i> Stabil Haba	19
4	Skema Kedudukan Ferum dan Anion Pada Struktur Laktoferin	28
5	Nisbah (%) Bifidobakteria, <i>E. coli</i> dan Enterokokus dalam Flora Usus Bayi yang Menyusu Susu Ibu Dalam Masa 30 Hari Kelahiran	31
6	Graf Pengumpulan Fraksi Pemencilan Laktoferin Daripada Susu Lembu	58
7	Kadar Pertumbuhan <i>B. asteroides</i> dan <i>E. coli</i> Di dalam Media Ekstrak TPY	62
8	Kadar Pertumbuhan <i>B. asteroides</i> dan <i>E. coli</i> Di dalam Bubur Nasi	64
9	Kadar Perencatan Pertumbuhan <i>E. coli</i> oleh <i>B. asteroides</i>	67
10	Kadar Pertumbuhan <i>B. asteroides</i> Di dalam Bubur Nasi yang Mengandungi Laktoferin dan Apo-laktoferin	72
11	Kadar Pertumbuhan <i>E. coli</i> Di dalam Bubur Nasi yang Mengandungi Laktoferin dan Apo-laktoferin	74
12	Kadar Pertumbuhan <i>E. coli</i> Di dalam Bubur Nasi yang Mengandungi <i>B. asteroides</i> , Laktoferin, Apo-laktoferin, <i>B. asteroides</i> bersama Laktoferin dan <i>B. asteroides</i> bersama Apo-laktoferin	76
13	Jumlah Koloni <i>E. coli</i> Di dalam Feses Mencit Teraruh Diarea bagi Pelbagai Perlakuan	96
14	Jumlah Koloni Bifidobakteria Di dalam Feses Mencit Teraruh Diarea bagi Pelbagai Perlakuan	97
15	Jumlah Koloni <i>E. coli</i> Di dalam Salur Gastrousus Mencit Teraruh Diarea bagi Pelbagai Perlakuan	102
16	Jumlah Koloni <i>B. asteroides</i> Di dalam Salur Gastrousus Mencit Teraruh Diarea bagi Pelbagai Perlakuan	104



## SENARAI SINGKATAN

ACTH	:	Hormon adrenokortikotiroid
ADH	:	Hormon antidiuretik
BSA	:	Bovine Serum Albumin
cAMP	:	Siklik 3',5' adenosin monofosfat
DME	:	Diastatic Malt Extract
EDTA	:	Ethyenediaminetetraacetate
GDP	:	Guanosin difosfat
IgG	:	Immunoglobulin G
Lf	:	Laktoferin
PAGE	:	Polyacrylamide Gel Electrophoresis
PBS	:	Phosphate Buffer Saline
SDS	:	sodium dodecyl sulfat
SEM	:	Scanning Electrone Microscope
TEM	:	Transmision Electrone Microscope
TEMED	:	N, N, N', N', - Tetramethylethylenediamine
TPY	:	Trypticase- Peptone-Yeast
w/v	:	weight/volume



Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Putra Malaysia sebagai memenuhi keperluan untuk Ijazah Master Sains

**PERENCATAN TERHADAP PERTUMBUHAN *ESCHERICHIA COLI* OLEH  
LAKTOFERIN DAN *BIFIDOBACTERIUM ASTEROIDES***

Oleh

**ASWIR ABD. RASHED**

April, 1998

Pengerusi : Prof. Madya Dr. Maznah Ismail.

Fakulti : Perubatan dan Sains Kesihatan.

Laktoferin merupakan sejenis protein pengikat ferum yang banyak terdapat di dalam susu dan sekresi eksternal tubuh yang lain serta berupaya bertindak sebagai agen antibakteria. Bifidobakteria merupakan sebahagian daripada komposisi utama flora usus manusia normal dan turut berperanan merencat pertumbuhan bakteria patogenik. Kajian ini menggunakan laktoferin yang diekstrak daripada susu lembu, apo-laktoferin yang disediakan daripada laktoferin yang diekstrak dan *B. asteroides* yang telah diasingkan daripada lebah madu (No. D-21) diperolehi dari Jabatan Teknologi Makanan, UPM untuk mengkaji kesan antibakteria terhadap *E. coli* 2520 USCC melalui kajian secara *in vitro* dan *in vivo*. Kajian secara *in vitro* mendapati laktoferin pada kepekatan 1.0 mg/ml menunjukkan kesan perencatan terhadap kadar pertumbuhan *E. coli* 2520 (USCC) antara 3 - 9 jam ujikaji, apo-laktoferin menunjukkan kesan perencatan terhadap pertumbuhan *E. coli* pada jangkamasa ujikaji



yang sama dengan kepekatan 0.5 mg/ml, manakala, *B. asteroides* menunjukkan kesan perencatan terhadap pertumbuhan *E. coli* antara 15 - 48 jam ujikaji. Kajian menggunakan kaedah TEM menunjukkan komposisi intrasel *E. coli* musnah akibat tindakan *B. asteroides*. Apo-laktoferin berupaya mengganggu kestabilan struktur dinding sel *E. coli*, tetapi, laktoferin kurang berkesan untuk bertindak terhadap struktur *E. coli*. Untuk kajian *in vivo* pula, 240 ekor mencit (*Mus musculus*) telah digunakan. *E. coli* 2520 (USCC) diberi secara oral pada kepekatan  $5 \times 10^3$  cfu/g yang boleh mengakibatkan diarea kepada mencit sebelum perlakuan lain diberi. *B. asteroides* ( $5 \times 10^6$  cfu/g) dan apo-laktoferin pada kepekatan 1.0 mg/ml didapati sangat berkesan untuk merencat pertumbuhan *E. coli* di dalam salur gastrousus, seterusnya mengurangkan jumlah koloni *E. coli* di dalam feses. Laktoferin pada kepekatan 1.0 mg/ml didapati kurang berupaya berbanding apo-laktoferin (1.0 mg/ml) dan *B. asteroides* ( $5 \times 10^6$  cfu/g) untuk merencat pertumbuhan *E. coli* di dalam salur gastrousus mencit, seterusnya mengurangkan jumlah koloni *E. coli* di dalam feses haiwan tersebut. Kajian menggunakan SEM mendapati jumlah koloni *E. coli* di dalam salur gastrousus berupaya dikurangkan akibat tindakan *B. asteroides* dan apo-laktoferin berbanding laktoferin yang hanya menunjukkan sedikit kesan pengurangan pengkolonian *E. coli* di dalam salur gastrousus. Sebagai kesimpulan, kajian *in vitro* menunjukkan bahawa laktoferin, apo-laktoferin dan *B. asteroides* berupaya merencat pertumbuhan *E. coli* 2520 (USCC) bagi jangkamasa tertentu secara bererti. Bagaimanapun, kajian *in vivo* menunjukkan hanya apo-laktoferin dan *B. asteroides* berupaya bertindak merencat pertumbuhan *E. coli* 2520 (USCC) secara berkesan



selain berupaya memusnahkan dinding sel dan komposisi selular *E. coli* 2520 (USCC).

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Putra Malaysia in fulfillment  
of the requirements for the degree of Master of Science

**INHIBITION OF THE GROWTH OF *ESCHERICHIA COLI* BY  
LACTOFERRIN AND *BIFIDOBACTERIUM ASTEROIDES***

By

**ASWIR ABD. RASHIED**

April, 1998

Chairman : Assoc. Prof. Dr. Maznah Ismail

Faculty : Medicine and Health Science

Lactoferrin is an iron - binding protein that can be found at a high concentration in milk and other external body secretions which may function as an antibacterial agent. Bifidobacterium are the main composition of the human intestinal flora which help to inhibit the growth of pathogenic bacteria. Lactoferrin, extracted from cow's milk, apo-lactoferrin prepared from the extracted lactoferrin and *B. asteroides* isolated from honey bees (No. D-21) obtained from Food Technology Department, UPM were used to determine their inhibiting effects on the growth of *E. coli* *in vitro* and *in vivo*. Lactoferrin and apo-lactoferrin inhibit the growth of *E. coli* 2520 (USCC) between 3 - 9 hours of incubation at the concentration of 1.0 mg/ml concentration and 0.5 mg/ml, respectively. *B. asteroides* also showed an inhibitory effect but at 15 - 48 hours of incubation. The TEM results showed that the *E. coli* intracell composition was damaged by the effect of *B. asteroides* and the cell wall



structure was disrupted by apo-lactoferrin, however, lactoferrin was less effective in disrupting the *E. coli* cell wall structure. A total of 240 mice (*Mus musculus*) were used for the *in vivo* study. Each mouse was induced with diarrhea by giving orally *E. coli* 2520 (USCC) at  $5 \times 10^3$  cfu/g a day. It was observed that *B. asteroides* at  $5 \times 10^6$  cfu/g was the most effective level in inhibiting the growth of *E. coli* in the gastrointestinal tract followed by apo-lactoferrin at 1.0 mg/ml concentration. Lactoferrin at 1.0 mg/ml concentration did not inhibit the growth of *E. coli* when compared to apo-lactoferrin (1.0 mg/ml) and *B. asteroides* ( $5 \times 10^6$  cfu/g). The colonization of *E. coli* in the gastrointestinal tract was reduced by the presence of *B. asteroides* and apo-lactoferrin, whereas, lactoferrin only showed less changes in the colonization. It was concluded that, lactoferrin, apo-lactoferrin and *B. asteroides* inhibited the growth of *E. coli in vitro*. However, *in vivo* studies showed only apo-lactoferrin and *B.asteroides* were found to inhibit the growth of *E. coli* 2520 (USCC) significantly and it seem that both apo-lactoferrin and *B. asteroides* were able to disrupt the cell wall and cellular composition respectively.



# BAB 1

## PENGENALAN

Diarea merupakan satu masalah kesihatan umum yang terjadi bukan hanya di negara-negara membangun tetapi juga di negara-negara maju. Pencegahan dan rawatan amat penting untuk mengelak penyakit ini daripada menjadi serius dan berkemungkinan menyebabkan kematian. Pada setiap tahun, dianggarkan 4 juta daripada 5 juta kanak-kanak yang berusia 5 tahun ke bawah mengidap diarea di seluruh dunia. Di Malaysia, kanak-kanak berusia 5 tahun ke bawah mewakili hampir 50% kematian akibat diarea setiap tahun (WHO, 1980).

Diarea seringkali terjadi akibat kontaminasi makanan oleh organisma tertentu selain faktor - faktor persekitaran yang kurang bersih. Pengkolonian pelbagai jenis bakteria di dalam salur gastrousus secara berlebihan mempengaruhi kejadian diarea. Diarea kerap berlaku akibat infeksi oleh bakteria seperti *E. coli* yang wujud di dalam makanan tambahan yang terkontaminasi oleh air dan peralatan yang kurang bersih serta pengendalian makanan yang kurang higienik.



Pelbagai alternatif diet disyorkan oleh WHO seperti penggunaan “Oral Dehydration Solution” (ORS) bagi mengawal diarea. Peyusuan susu ibu juga digalakkan secara berterusan semasa kanak-kanak ini mengalami diarea kerana sejenis protein yang berkepekatan tinggi di dalam susu ibu iaitu laktoferin didapati berupaya merencat pertumbuhan bakteria patogenik melalui pengikatan ion ferum yang perlu bagi pertumbuhan kebanyakan bakteria patogenik. Sungguhpun terdapat kajian secara *in vitro* dan *in vivo* dilakukan terhadap laktoferin tetapi aplikasi keberkesanan tindakannya masih belum meluas digunakan.

Sejenis bakteria probiotik iaitu bifidobakteria juga didapati berupaya menghalang kontaminasi makanan oleh bakteria patogenik penyebab diarea seperti *E. coli*. Memandangkan bakteria Gram - negatif mempunyai dinding sel yang nipis, penghasilan bahan kimia oleh bifidobakteria dipercayai dapat merencat penggandaan dan pengekspresan kepatogenan bakteria patogenik tersebut.

Memandangkan laktoferin dan bifidobakteria masing-masing mempunyai keupayaan merencat pertumbuhan bakteria patogenik, maka kajian ini dilakukan untuk mengkaji keupayaan tindakan laktoferin dan apo-laktoferin merencat pertumbuhan bakteria *E. coli* 2520 (USCC) secara *in vitro* dan *in vivo*. Strain bifidobakteria yang digunakan ialah *B. asteroides* dalam menentukan keupayaan tindakannya merencat pertumbuhan *E. coli* secara *in vitro* dan *in vivo*. Elektron mikroskop digunakan bagi mengenalpasti kesan tindakan laktoferin, apo-laktoferin dan bifidobakteria terhadap struktur ekstrasel atau intrasel *E. coli*.

Kajian ini juga diharap menyedarkan masyarakat akan kepentingan penyusuan susu ibu di samping pemberian makanan tambahan yang mengandungi protein perlu seperti laktoferin dan organisma probiotik seperti bifidobakteria untuk meningkatkan sistem pertahanan tubuh terhadap bakteria patogenik yang boleh mengakibatkan diarea. Penyediaan dan pemberian makanan terutamanya kepada bayi juga harus dilakukan secara betul dan selamat bagi mengelakkan kontaminasi berlaku.

Bagi merealisasikan matlamat tersebut, maka objektif kajian ini adalah:

- 1) Menentukan kesan laktoferin, apo-laktoferin, *B. asteroides* secara sendirian, *B. asteroides* bersama laktoferin, dan *B. asteroides* bersama apo-laktoferin terhadap kadar pertumbuhan *E. coli* 2520 secara *in vitro*.
- 2) Mengenalpasti perubahan yang berlaku terhadap *E. coli* akibat tindakan laktoferin, apo-laktoferin dan *B. asteroides* menggunakan TEM dan SEM.
- 3) Menentukan kesan perubahan pH dan asiditi terhadap pertumbuhan *E. coli*.
- 4) Menentukan kesan laktoferin, apo-laktoferin, *B. asteroides* secara sendirian, *B. asteroides* bersama laktoferin, dan *B. asteroides* bersama apo-laktoferin terhadap kadar pertumbuhan *E. coli* secara *in vivo*.

## **BAB II**

### **SOROTAN LITERATUR**

#### **Diarea**

Diarea merupakan penyakit yang sering berlaku dan boleh membawa maut terutama pada kanak-kanak. Di negara-negara membangun, seseorang itu selalunya mengalami tiga episod diarea (kejadian diarea melebihi 20 hari) di awal hidupnya (Feachem, 1983). Pada 1988, diarea merupakan masalah kesihatan yang utama di Malaysia yang merupakan penyebab kematian ketiga terbesar bagi kanak-kanak di bawah usia 12 tahun. Seramai 13 orang dilaporkan mati bagi setiap 1000 kematian (WHO, 1993). Organisma yang menyebabkan diarea paling mudah dipindahkan melalui haiwan peliharaan seperti kucing dan anjing (NST, 1988). Kajian oleh Jabatan Perangkaan, Kementerian Kesihatan Malaysia melaporkan pada 1993 daripada 34,938 kematian yang telah disahkan dan diperiksa oleh doktor, 126 kematian didapati disebabkan oleh diarea atau mewakili 0.4% kematian (Jadual 1 dan Jadual 2). Daripada jumlah ini 60 kematian berlaku pada kanak-kanak berusia 4 tahun dan ke bawah iaitu 48% daripada jumlah kematian akibat diarea. Walaupun kematian akibat diarea dianggap rendah berbanding penyakit lain seperti kanser dan penyakit jantung

Jadual 1

**Kematian yang Disahkan dan Diperiksa oleh Doktor Mengikut Sebab Tertentu,  
Malaysia, 1993**

SEBAB-SEBAB	Bilangan Kematian	% dari Kematian yang Disahkan & Diperiksa oleh Doktor
Enteritis dan lain-lain Penyakit Cirit- Birit	126	0.4
Tibi	451	1.3
Septisemia	1 421	4.1
Kanser	3 898	11.2
Kencing Manis	752	2.1
Kekurangan Zat Makanan	140	0.4
Penyakit Jantung dan Gangguan Kardiovaskular	10 058*	28.8
Pneumonia	924	2.6
Penyakit Hati yang Kronik dan Sirosis hati	304	0.9
Nefritis, Sindrom Nefrotik dan Nefrosis	1 076	3.1
Kongnital Anomali	1 081	3.1
Kecederaan Semasa dilahirkan dan lain-lain sebab	2 666	7.6
Kematian Perinatal		
Kemalangan Jalanraya Kenderaan Bermotor	1 646	4.7
Semua Kemalangan Lain-lain	1 309	3.7
<b>SEMUA SEBAB</b>	<b>34 938</b>	<b>100.0</b>

\* 2 912 adalah kematian dari penyakit kardiovaskular  
(Sumber : Jabatan Statistik, Laporan Tahunan Kementerian Kesihatan  
Malaysia, 1993)



Jadual 2

**Kematian Mengikut Sebab yang Disahkan dan Diperiksa oleh Doktor,  
bagi Kumpulan Umur, Malaysia, 1993**

Sebab kematian	Semua umur	Jumlah				
		< 1	1 - 4	5 - 9	10 - 19	> 20
Kolera	16	1	0	0	3	12
Tifoid dan paratifoid	21	0	0	1	9	11
Jangkitan usus	110	37	22	1	1	49
Tuberkulosis	537	7	5	4	16	505
Batuk	1	1	0	0	0	0
Infeksi meningitis	3	2	0	0	0	1
Tetanus	13	3	0	1	0	9
Septisemia	1,920	343	125	28	73	1351
Cacar air	0	0	0	0	0	0
Campak	11	0	9	1	0	1
Malaria	22	2	4	4	1	11
Infeksi parasit	296	17	16	8	21	234
Neoplasma perut	275	0	0	0	0	275
Neoplasma kolon	183	0	0	0	2	181
Neoplasma trakea, bronkus dan peparu	781	0	0	0	3	778
Neoplasma payu dara	263	0	0	0	0	263
Neoplasma servik uterus	122	0	0	0	0	122
Leukemia	299	4	10	21	49	188
Neoplasma rektum, cabang rektosigmoid dan anus	119	0	0	0	0	119
Neoplasma lain	1,925	10	19	17	51	1828

(Sumber: Jabatan Statistik, Laporan Tahunan Kementerian Kesihatan  
Malaysia, 1993)