

## POTENSI BAKTERI ASAM LAKTAT PROBIOTIK INDIGENUS SEBAGAI ANTIDIARE DAN IMUNOMODULATOR

[Potency of Indigenous Probiotic Lactic Acid Bacteria as Antidiarrheal Agent and Immunomodulator]

Made Astawan<sup>1)\*</sup>, Tutik Wresdiyati<sup>2)</sup>, Irma Isnafia Arief<sup>3)</sup>, dan Dwi Febiyanti<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

<sup>2)</sup> Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

<sup>3)</sup> Departemen Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor

Diterima 23 Juni 2010 / Disetujui 7 September 2011

### ABSTRACT

The aim of the study was to observe the ability of indigenous probiotic lactic acid bacteria (LAB) *Lactobacillus plantarum* 2C12 and *Lactobacillus fermentum* 2B4 as antidiarrheal agent in rats infected by Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC), and also to observe their effect as immunomodulator (malonaldehyde level and proliferation of lymphocyte cell). A total of 90 male Sprague Dawley rats were used for this study and divided into 6 groups i.e.: (1) Negative Control (not infected with EPEC), (2) LAB *L. plantarum* 2C12, (3) LAB *L. fermentum* 2B4, (4) LAB *L. plantarum* 2C12 + EPEC, (5) LAB *L. fermentum* 2B4 + EPEC, and (6) Positive Control (infected with EPEC). The treatment of LAB was undertaken from 1<sup>st</sup>-21<sup>st</sup> day, while infection of EPEC using 10<sup>6</sup> cfu/ml per day was undertaken during 8<sup>th</sup> -14<sup>th</sup> day. Groups administered with LAB *L. plantarum* 2C12 + EPEC, LAB *L. fermentum* 2B4 + EPEC, and positive control, showed decreased body weight during 12<sup>th</sup>-21<sup>st</sup> day. At the 21<sup>st</sup> day, positive control group underwent acute diarrhea (fecal water content was 68.2 % b/b). Statistical analysis with Duncan Test showed that the treatment given to six groups of rats gave significant effect ( $p < 0.05$ ) toward PER value, number of lymphocyte cells and malonaldehyde level in liver and kidney of the rats.

**Key words** : *L. plantarum* 2C12, *L. fermentum* 2B4, EPEC, antidiarrheal agent, immunomodulator

### PENDAHULUAN

Diare akut merupakan penyebab utama kematian bayi di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia. Di Indonesia, diare masih menjadi masalah kesehatan dan penyakit ini dapat terjadi pada semua golongan usia. Diare dan gastroenteritis karena infeksi tertentu menjadi urutan pertama penyebab rawat inap di rumah sakit di Indonesia, bahkan pada tahun 2006 penyakit ini menempati urutan ke-3 penyakit utama penyebab kematian di rumah sakit di Indonesia, setelah stroke dan perdarahan intrakranial (Anonim, 2008).

Salah satu penyebab diare adalah infeksi bakteri patogen di saluran pencernaan. Beberapa bakteri patogen penyebab diare yaitu *Escherichia coli*, *Shigella* sp., *Salmonella* sp., dan *Helicobacter pylori*. Diare didefinisikan sebagai buang air besar bersama feses yang tidak berbentuk atau cair dengan frekuensi lebih dari 3 kali selama 24 jam. Penyebab diare terbesar adalah karena infeksi dan intoksikasi (*poisoning*). WHO menyatakan ada sekitar 4 milyar kasus diare infeksi setiap tahun dengan tingkat mortalitas 3-4 juta per tahun (Zein *et al.*, 2004).

Menurut Fuller (1989), probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang dapat dimanfaatkan untuk keseimbangan populasi mikroba dalam usus. Penelitian para ahli telah membuktikan bahwa secara *in vitro* bakteri probiotik galur *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* dapat menghambat penempelan dan invasi bakteri enteropatogen penyebab diare (Bourlioux *et al.*, 2003;

Ishibashi, Yamazaki, 2001). Beberapa peneliti juga melaporkan bahwa mengonsumsi bakteri asam laktat (BAL) golongan *Lactobacillus* mampu meningkatkan sistem imun seluler dan humoral di antaranya peningkatan populasi dan proliferasi sel limfosit, produksi sitokin interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), interleukin-12 (IL-12), IL-10, sel imun Th, serta immunoglobulin (Ig) A, IgE, IgG, dan IgM (Gackowska *et al.*, 2006; dan Aattouri *et al.*, 2002).

Arief *et al.* (2008) telah berhasil mengisolasi 10 BAL indigenus dari daging sapi yang berasal dari beberapa pasar tradisional di daerah Bogor. Ke-10 BAL tersebut memiliki karakteristik sebagai bakteri probiotik dan menghasilkan senyawa antimikroba yang menghambat pertumbuhan bakteri Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC), Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC), *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella* Typhimurium. Berdasarkan hasil identifikasi diketahui bahwa *L. plantarum* 2C12 dan *L. fermentum* 2B4 memiliki penghambatan terbaik terhadap EPEC. Namun demikian, sifat fungsional lainnya belum diteliti, terutama sifat fungsionalnya sebagai pencegah diare akibat infeksi EPEC. Berdasarkan beberapa fakta yang telah disebutkan di atas, dalam penelitian ini dikaji lebih lanjut mengenai potensi BAL, terutama *L. plantarum* 2C12 dan *L. fermentum* 2B4, sebagai antidiare dan immunomodulator.

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* menggunakan tikus percobaan. Hipotesis dari penelitian ini adalah BAL *L. plantarum* 2C12 dan *L. fermentum* 2B4 memiliki karakteristik sebagai bakteri probiotik dan menghasilkan senyawa antimikroba yang secara *in vitro* menghambat pertumbuhan bakteri EPEC. Diduga, secara *in vivo* kedua BAL tersebut dapat mencegah

\*Korespondensi Penulis :  
Email : mastawan@yahoo.com

diare yang diakibatkan oleh EPEC dan dapat mempengaruhi status imun, yang dilihat dari profil jumlah sel limfosit organ limpa dan kadar malonaldehida (MDA) organ hati dan ginjal tikus percobaan.

**METODOLOGI**

**Bahan dan alat**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan *Albino Norway Rats (Rattus norvegicus)* galur *Sprague Dawley* umur 5-6 minggu hasil pengembangbiakan Badan POM RI, ransum tikus, suspensi EPEC, suspensi *L. plantarum* 2C12, suspensi *L. fermentum* 2B4, TEP (1,1,3,3-tetraetoksipropana), *Phosphat Buffer Saline* (PBS) pH 7,4 yang mengandung 11,5 g KCl/L (disimpan pada suhu 2-5°C), HCL 0,25 N yang mengandung 15% TCA, 0,38% TBA, dan 0,5% BHT, alkohol 70%, RPMI-1640 steril, NH<sub>4</sub>Cl 0,85% steril, pewarna *tryphan blue*.

Alat utama yang digunakan dalam penelitian adalah oven, *spektrofotometer visible* (SPECTRONIC 20D+), mikroskop cahaya (OLYMPUS model CH20BIMF 200) dan hemasitometer Neubauer (BRIGHT LINE®).

**Perlakuan terhadap hewan percobaan dan pengambilan sampel**

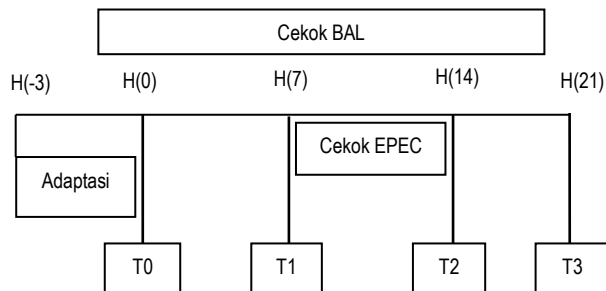
Tikus dibagi dalam 6 kelompok perlakuan (Tabel 1). Tikus diare dipersiapkan dengan cara menginfeksi tikus dengan bakteri EPEC. Selama percobaan, semua kelompok tikus diberi pakan ransum standar.

Tabel 1. Kelompok perlakuan tikus percobaan

Kelompok Tikus	Perlakuan
Kontrol negatif	Tikus normal yang hanya diberi akuades
BAL <i>L. plantarum</i> 2C12	Tikus yang diberi BAL <i>L. plantarum</i> 2C12
BAL <i>L. fermentum</i> 2B4	Tikus yang diberi BAL <i>L. fermentum</i> 2B4
BAL <i>L. plantarum</i> 2C12 + EPEC	Tikus yang diberi BAL <i>L. plantarum</i> 2C12, diselingi infeksi EPEC
BAL <i>L. fermentum</i> 2B4 + EPEC	Tikus yang diberi BAL <i>L. fermentum</i> 2B4, diselingi infeksi EPEC
Kontrol positif	Tikus yang hanya diberi infeksi EPEC

Pemberian BAL dilakukan selama tiga minggu penuh, yaitu dari hari ke-1 hingga ke-21, secara oral menggunakan sonde. BAL yang diberikan yaitu *L. plantarum* 2C12 dan *L. fermentum* 2B4 sebanyak 1 ml dengan populasi 10<sup>8</sup> cfu/ml. Infeksi EPEC dilakukan dengan populasi 10<sup>6</sup> cfu/ml sebanyak 1 ml per hari selama 7 hari (hari ke-8 sampai ke-14), secara oral menggunakan sonde.

Pembedahan tikus untuk analisis peubah yang diamati dilakukan pada hari ke-7, 14 dan 21 (Gambar 1). Organ hati dan ginjal diambil untuk dianalisis kadar malonaldehida (MDA) serta organ limpa diambil untuk diuji proliferasi sel limfositnya.



Gambar 1. Bagan perlakuan pada tikus percobaan T0 = terminasi awal; T1 = terminasi hari ke-7; T2 = terminasi hari ke-14; T3 = terminasi hari ke-21, masing-masing 5 tikus setiap kelompok.

**Pengukuran bobot badan dan nilai PER (Protein Efficiency Ratio)**

Bobot badan tikus ditimbang setiap tiga hari sekali untuk mengetahui perubahan bobot badan tikus selama perlakuan. Nilai PER dihitung dengan persamaan:

$$PER = \frac{\text{Kenaikan berat badan (g)}}{\text{Jumlah protein yang dikonsumsi}}$$

**Pengamatan terjadinya diare pada tikus terinfeksi EPEC**

Kejadian diare tikus percobaan dapat diamati dengan cara mengukur kadar air feses yang dikoleksi pada hari ke-14 dan ke-21. Penentuan kadar air feses mengikuti prosedur analisis kadar air menurut AOAC (1989).

**Analisis kadar malonaldehida hati dan ginjal (Conti et al., 1991)**

Kadar Malonaldehida (MDA) organ hati dan ginjal tikus percobaan diukur secara kuantitatif dengan metode *Thiobarbituric Acid Reactivity Test*. Metode ini didasarkan pada reaksi antara MDA dan TBA (Thiobarbituric Acid) dalam suasana asam. Kompleks MDA-TBA yang terbentuk memiliki warna merah jambu dan absorbansinya dapat diukur pada panjang gelombang 532 nm. Organ hati atau ginjal ditimbang, kemudian ditambahkan larutan PBS dingin 2,5 ml dan digerus. Hasil gerusan kemudian divorteks dan disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Supernatan sebanyak 1 ml ditambah 4 ml reagen, kemudian divorteks dan diinkubasi dalam *water bath* 80°C selama 60 menit. Setelah diinkubasi, sampel didinginkan sampai suhu ruang, kemudian disentrifus 4000 rpm selama 10 menit. Pengukuran absorbansi sampel dilakukan pada λ 532 nm. Kurva standar dibuat dengan menggunakan TEP (1, 1, 3, 3-tetraetoksipropana) yang diencerkan menjadi beberapa seri pengenceran, kemudian diukur absorbansinya pada λ 532 nm.

**Pengamatan jumlah sel limfosit (Tejasari, 2000)**

Organ limpa tikus percobaan dicuci dalam RPMI-1640 steril, kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi 3 ml RPMI-1640 steril. Limpa digerus sehingga didapat sel limfosit. Gerusan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang, sedangkan pelet sel diberi 2 ml NH<sub>4</sub>Cl 0,85% steril selama 2 menit dan segera ditambahkan 3

ml RPMI-1640. Suspensi kembali disentrifus 3000 rpm selama 10 menit. Endapan yang mengandung sel limfosit kemudian dicuci dan diencerkan dengan 2 ml RPMI-1640. Jumlah sel limfosit yang hidup dihitung dengan hematisometer dan pewarna *tryphan blue*. Sel yang mati akan berwarna biru, sedangkan sel limfosit hidup terlihat transparan.

**Rancangan percobaan**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap, dengan model matematika sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$  : pengaruh perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

$\mu$  : nilai tengah perlakuan

$\alpha_i$  : pengaruh perlakuan ke-i

$\beta_j$  : pengaruh ulangan ke-j

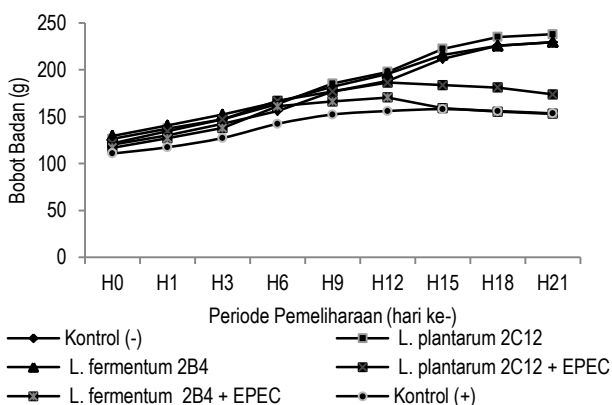
$\epsilon_{ij}$  : galat perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Data dianalisis dengan menggunakan ANOVA. Jika terdapat perbedaan nyata akan diuji lanjut dengan uji Duncan *Multiple Comparison Test* (Steel dan Torrie, 1995).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Bobot badan tikus dan nilai PER**

Pertumbuhan bobot badan tikus selama percobaan dapat dilihat pada Gambar 2. Pada umumnya bobot badan tikus mengalami kenaikan selama pemeliharaan. Akan tetapi, pada tikus yang diberi EPEC yaitu tikus kelompok BAL *L. plantarum* 2C12 + EPEC, BAL *L. fermentum* 2B4 + EPEC dan kontrol positif, mengalami penurunan bobot badan sejak hari ke-12 hingga ke-21. Hal ini disebabkan tikus tersebut diduga mengalami infeksi saluran pencernaan oleh EPEC, sehingga proses penyerapan zat-zat gizi di dalam usus menjadi terganggu.



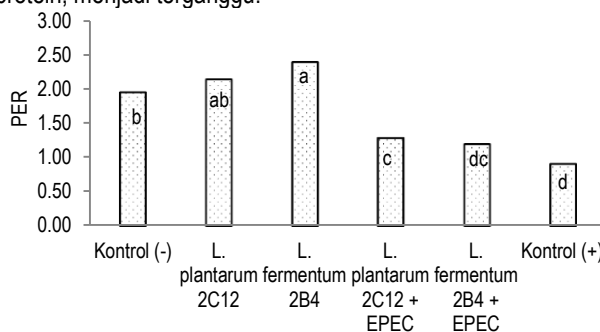
Gambar 2. Pertumbuhan bobot badan tikus selama 21 hari percobaan

Adhesi atau pelekatan bakteri patogen pada permukaan mukosa menjadi tahap awal infeksi saluran usus. Pelekatannya pada sel epitelial usus akan mengakibatkan kolonisasi, kerusakan sel, gangguan mekanisme pengaturan sel, serta pertumbuhan dan perkembangbiakan intraselular (Coconnier *et al.*, 1993).

Penurunan bobot badan kelompok tikus yang diberi EPEC, diperkuat dengan nilai PER tikus percobaan (Gambar 3). Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap nilai PER tikus percobaan. Tikus kelompok BAL *L. fermentum* 2B4 memiliki nilai PER yang paling tinggi, sedangkan tikus kelompok kontrol positif memiliki nilai PER yang paling rendah. Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa nilai PER tikus kelompok BAL *L. fermentum* 2B4 + EPEC tidak berbeda nyata dengan nilai PER tikus kelompok BAL *L. plantarum* 2C12 + EPEC dan kontrol positif, namun berbeda nyata dengan kelompok tikus lainnya.

Nilai PER menunjukkan pengaruh penyerapan protein yang dikonsumsi terhadap berat badan. Rendahnya nilai PER kelompok tikus yang diinfeksi EPEC bukan disebabkan oleh perbedaan sumber protein pada ransum, tetapi lebih disebabkan oleh pemberian EPEC.

Mekanisme adhesi yang terjadi pada infeksi EPEC melibatkan gen *EPEC adherence factor* (EAF) melalui *Bundle Forming Pili* (BFP). Mekanisme ini menyebabkan perubahan konsentrasi kalsium intraseluler dan arsitektur sitoskeleton di bawah membran mikrovili, sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan mikrovili (Zein *et al.*, 2004). Dengan rusaknya mikrovili, menyebabkan hilangnya area penyerapan zat gizi di usus halus. Oleh karena itu penyerapan zat-zat gizi, termasuk protein, menjadi terganggu.



Gambar 3. Nilai PER tikus percobaan pada berbagai perlakuan. Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ).

**Kejadian diare pada tikus terinfeksi EPEC**

BAL memberikan manfaat positif bagi kesehatan, khususnya menjaga keseimbangan mikroflora dan saluran pencernaan. Kementerian Kesehatan dan Kesejahteraan Jepang mengidentifikasi 12 komponen bahan pangan yang dikategorikan dapat meningkatkan kesehatan, dan BAL termasuk salah satu di antaranya (Surono, 2004).

Manfaat kesehatan yang berkaitan dengan BAL adalah mengendalikan bakteri patogen dalam saluran pencernaan (Surono, 2004). EPEC merupakan salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan diare. EPEC melekat pada sel mukosa usus dan menyebabkan terjadinya perubahan struktur sel, kemudian melakukan invasi menembus sel mukosa.

Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan kepada tikus percobaan berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap kadar air feces (%bb) tikus pada hari ke-14 dan ke-21 (Tabel 2). Uji lanjut Duncan pada hari ke-14 menunjukkan bahwa kadar air feces kelompok kontrol positif (diberi EPEC

saja) berbeda nyata dengan kadar air feses kelompok lainnya, termasuk kelompok *L. plantarum* 2C12 + EPEC dan *L. fermentum* 2B4 + EPEC dan nilainya paling besar (63,95 %bb). Feses tikus kelompok kontrol positif tampak berlendir sebagai tanda telah terjadi infeksi pada saluran pencernaannya, sedangkan feses pada kelompok tikus yang lain tidak berlendir.

Tabel 2. Kadar air feses tikus percobaan (%bb)

Kelompok Tikus	Hari Ke-14	Hari Ke-21
Kontrol negatif	52,07 <sup>a</sup>	53,20 <sup>bc</sup>
BAL <i>L. plantarum</i> 2C12	49,20 <sup>a</sup>	46,00 <sup>a</sup>
BAL <i>L. fermentum</i> 2B4	49,16 <sup>a</sup>	48,30 <sup>ab</sup>
BAL <i>L. plantarum</i> 2C12 + EPEC	48,22 <sup>a</sup>	57,75 <sup>c</sup>
BAL <i>L. fermentum</i> 2B4 + EPEC	46,63 <sup>a</sup>	53,37 <sup>c</sup>
Kontrol positif	63,95 <sup>b</sup>	68,92 <sup>d</sup>

Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ )

Uji lanjut Duncan pada hari ke-21 juga menunjukkan bahwa kadar air feses kelompok kontrol positif berbeda nyata dengan kadar air feses kelompok lainnya dan nilainya meningkat menjadi 68,92 %bb. Kadar air feses kelompok *L. plantarum* 2C12 + EPEC dan *L. fermentum* 2B4 + EPEC tidak berbeda nyata satu sama lain dan juga tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif.

Pada hari ke-21, kelompok tikus BAL *L. plantarum* 2C12 + EPEC, BAL *L. fermentum* 2B4 + EPEC, dan kontrol positif mengalami diare. Akan tetapi, kelompok kontrol positif mengalami diare yang lebih parah. Kadar air feses tikus kelompok BAL *L. plantarum* 2C12 + EPEC dan BAL *L. fermentum* 2B4 + EPEC adalah 57,75 dan 53,37%bb. Pada tikus yang sehat (kelompok kontrol negatif, BAL *L. plantarum* 2C12, dan BAL *L. fermentum* 2B4) kadar air feses berkisar 46,00-53,20%bb. Penelitian Nababan (2011) menunjukkan bahwa tikus sehat dan tikus yang diberi yogurt sinbiotik memiliki kadar air feses berkisar antara 55,93 sampai 56,01 %bb.

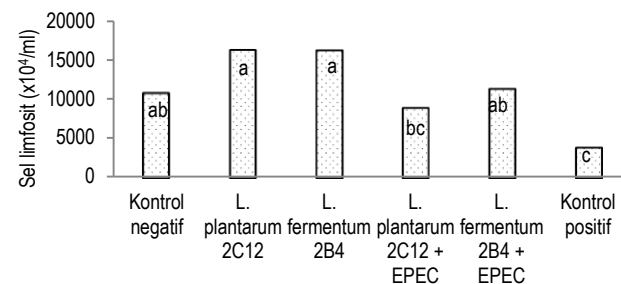
Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa pemberian EPEC mengakibatkan terjadinya diare, ditandai oleh tingginya kadar air feses tikus kelompok kontrol positif (diberi EPEC saja) dibandingkan kelompok tikus lainnya. Selain itu, pemberian *L. fermentum* 2B4 dan *L. plantarum* 2C12 dapat menekan terjadinya diare pada tikus yang diberi EPEC.

**Jumlah sel limfosit**

Limfosit adalah sel darah putih (leukosit) yang berukuran kecil, berbentuk bulat dengan diameter 7-15 µm. Limfosit merupakan sel kunci dalam proses respon imun spesifik, untuk mengenali antigen yang beragam. Setiap limfosit hanya dapat mengenal satu antigen sehingga dalam proses respon imun, limfosit saling bekerja sama untuk mengeliminasi beragam antigen yang masuk ke dalam tubuh (Roitt, 1991). Sel limfosit terdiri atas sel T dan sel B yang keduanya bertanggung jawab dalam respon imun spesifik untuk mengenali antigen melalui reseptor antigen. Sel limfosit juga mampu membedakan antigen dengan komponen tubuh sendiri atau berfungsi sebagai pengontrol sistem imun (Bellanti, 1993).

Proliferasi merupakan fungsi biologis mendasar limfosit, yaitu proses diferensiasi dan pembelahan (mitosis) sel. Limfosit

merupakan sel tunggal yang bertahan baik pada saat dikultur dalam media sederhana. Respon proliferasi kultur limfosit digunakan untuk menggambarkan fungsi limfosit dan status imun individu (Tejasari, 2000). Jumlah sel limfosit pada hari ke-21 yang diisolasi dari limpa tikus percobaan dapat dilihat pada Gambar 4. Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap jumlah sel limfosit. Kelompok tikus BAL *L. fermentum* 2B4 memiliki jumlah sel limfosit paling tinggi, sedangkan kelompok tikus kontrol positif memiliki jumlah sel limfosit paling rendah. Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa jumlah sel limfosit tikus kelompok kontrol positif berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif, BAL *L. plantarum* 2C12, BAL *L. fermentum* 2B4, dan BAL *L. fermentum* 2B4 + EPEC, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok BAL *L. plantarum* 2C12 + EPEC.



Gambar 4. Jumlah sel limfosit tikus percobaan (x10<sup>4</sup>/ml). Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ )

Kelompok tikus yang diberi *L. plantarum* 2C12 dan *L. fermentum* 2B4 memproduksi sel limfosit yang lebih banyak dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberi BAL dan EPEC, serta yang diberi EPEC saja (kontrol positif). BAL terbukti mampu meningkatkan jumlah sel limfosit. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa BAL yang digunakan pada penelitian ini, yaitu *L. plantarum* 2C12 dan *L. fermentum* 2B4, mempunyai sifat sebagai imunomodulator.

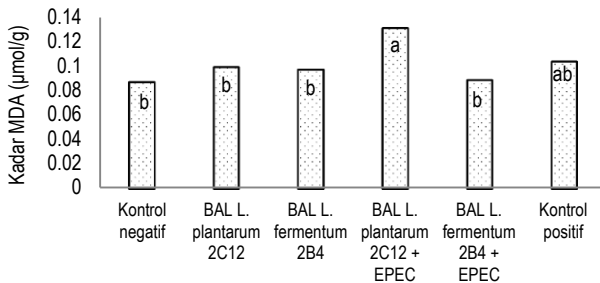
Aattouri *et al.* (2002) melaporkan hasil penelitiannya yang membuktikan bahwa konsumsi BAL golongan *Lactobacillus* mampu meningkatkan sistem imun seluler dan humoral, di antaranya peningkatkan populasi dan proliferasi sel limfosit, produksi sitokin interferon-γ (IFN- γ), interleukin-12 (IL-12), IL-10, sel imun Th, serta imunoglobulin (Ig)A, IgE, IgG serta IgM. Menurut Surono (2004), BAL yang melekat pada sel epithelial usus manusia dapat mengaktifkan makrofag. Stimulasi imun BAL adalah melalui komponen dinding sel, yaitu peptidoglikan yang menginduksi permukaan mukosa. Glukan pada dinding sel bakteri akan merangsang makrofag memproduksi interleukin, meningkatkan aktivitas proliferasi sel limfosit. Sel limfosit membelah menjadi limfosit T dan limfosit B. Limfosit T akan melepaskan interferon, kembali mengaktifkan makrofag dan limfosit B dalam memproduksi antibodi. Selain itu, glukan juga akan merangsang makrofag lebih banyak memproduksi lisozim. Antibodi yang dihasilkan ini merupakan respon mekanisme humoral dalam mekanisme kekebalan spesifik.

**Kadar malonaldehida hati dan ginjal**

Menurut Koltas *et al.* (2006) MDA yang merupakan hasil peroksidasi lipida merupakan indikator terjadinya stres oksidatif

pada jaringan dan sel. Stres oksidatif menggambarkan kondisi kerusakan oksidatif yang terjadi ketika keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan tidak bertahan dengan baik (Lampe dan Cheryl, 2008). Biomarker stres oksidatif merupakan produk akhir reaksi antara radikal bebas dan komponen lipida, protein, karbohidrat, DNA, dan molekul lainnya yang potensial (Mayne, 2003). Tikus yang dipapar oleh EPEC akan mengalami diare. Keadaan ini akan mengganggu sistem imun tikus dan juga menyebabkan tikus mengalami stres. Keadaan stres memungkinkan meningkatkan radikal bebas dalam tubuh. Secara tidak langsung, jumlah radikal bebas ditunjukkan oleh kadar malonaldehida (MDA, C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) dan keduanya berbanding lurus. MDA merupakan salah satu produk akhir peroksidasi lipida yang terbentuk setelah aksi senyawa radikal. Itulah yang menyebabkan MDA dapat digunakan sebagai indikator keberadaan radikal bebas dalam tubuh dan indikator kerusakan oksidatif membran sel (Astuti *et al.*, 2009).

Gambar 5 menunjukkan kadar MDA hati berbagai kelompok perlakuan tikus pada hari ke-21. Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan kepada tikus percobaan berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap kadar MDA hati. Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa hati tikus kelompok BAL *L. fermentum* 2B4 memiliki kadar MDA (0,0971  $\mu\text{mol/g}$  hati) yang tidak berbeda nyata dengan kelompok tikus lainnya, tetapi berbeda nyata dengan kelompok BAL *L. plantarum* 2C12 + EPEC (0,1307  $\mu\text{mol/g}$  hati).

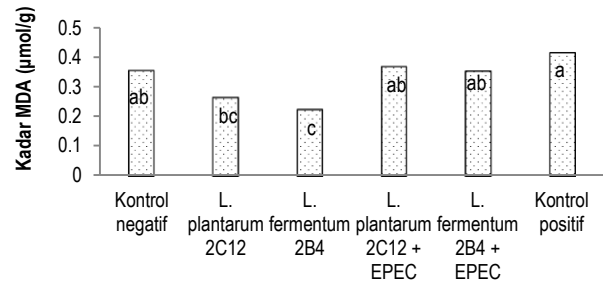


Gambar 5. Kadar MDA hati tikus ( $\mu\text{mol/g}$  hati) pada hari ke-21 percobaan. Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ )

Hal yang sangat menarik dari penelitian ini adalah adanya perbedaan yang nyata antara kadar MDA hati tikus kelompok BAL *L. plantarum* 2C12 + EPEC (0,1307  $\mu\text{mol/g}$  hati) dengan kelompok BAL *L. fermentum* 2B4 + EPEC (0,0886  $\mu\text{mol/g}$  hati). Selain itu, kadar MDA hati tikus kelompok *L. plantarum* 2C12 + EPEC tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa BAL *L. fermentum* 2B4 lebih efektif dalam menekan terbentuknya MDA akibat pengaruh infeksi EPEC dibandingkan BAL *L. plantarum* 2C12.

Gambar 6 menunjukkan kadar MDA ginjal berbagai kelompok perlakuan tikus pada hari ke-21. Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan kepada tikus percobaan berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap kadar MDA ginjal. Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa ginjal tikus kelompok perlakuan BAL *L. fermentum* 2B4 memiliki kadar MDA paling rendah (0,2233  $\mu\text{mol/g}$ ginjal) dan berbeda nyata dengan kelompok lainnya, tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok BAL *L. plantarum* 2C12 (0,2641  $\mu\text{mol/g}$ ginjal).

Mikelsaar dan Zilmer (2009) menemukan bahwa dua strain *L. fermentum* memiliki pengaruh yang kuat sebagai probiotik baru dengan sifat fungsional berupa antimikrobal dan antioksidatif. Jenis antimikrobal yang dimiliki antara lain berupa: asam asetat, asam laktat, asam suksinat, *putrescine*, NO, CO<sub>2</sub>, dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.



Gambar 6. Kadar MDA ginjal tikus ( $\mu\text{mol/g}$  ginjal) pada hari ke-21 percobaan. Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ )

Bakteri probiotik terbukti efektif dalam menangani berbagai penyakit seperti tukak lambung, diare, intoleransi terhadap laktosa, alergi makanan, dan juga kanker saluran pencernaan (Zubillaga *et al.*, 2001). *L. plantarum* dan *L. fermentum* merupakan bakteri asam laktat yang tergolong strain probiotik.

Manfaat kesehatan BAL di antaranya adalah mengendalikannya bakteri patogen dalam saluran pencernaan dan menstimulir sistem imun (Surono, 2004). Efek antagonisme atau antibakteri BAL terdiri atas dua mekanisme, yaitu dengan menghasilkan senyawa metabolit primer seperti asam laktat, CO<sub>2</sub>, diasetil, asetaldehida, dan hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>); dan dengan menghasilkan bakteriosin yang merupakan senyawa protein yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri sejenis. Menurut Kaur *et al.* (2002), BAL menjaga keseimbangan mikroflora saluran pencernaan dan meningkatkan respon imun dengan cara: (1) berkompetisi dengan patogen enterik, (2) memicu sintesis sitokin dari enterosit, (3) memproduksi metabolit yang bersifat toksik (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), (4) memproduksi asam butirrat (meningkatkan *turnover* enterosit), (5) memulihkan mikroflora normal selama terapi antibiotik, dan (6) memproduksi bakteriosin.

## KESIMPULAN

Pemberian EPEC dengan dosis 10<sup>6</sup> cfu/ml selama tujuh hari pada tikus percobaan dapat menyebabkan diare, penurunan berat badan, dan penurunan nilai PER. Pemberian *L. plantarum* 2C12 dan *L. fermentum* 2B4 dengan dosis 10<sup>8</sup> cfu/ml pada tikus yang diberi EPEC dapat mencegah terjadinya diare.

Pemberian *L. plantarum* 2C12 dan *L. fermentum* 2B4 pada tikus yang diberi EPEC mempengaruhi sifat imunomodulator, yaitu meningkatkan jumlah sel limfosit organ limpa. BAL *L. fermentum* 2B4 dan *L. plantarum* 2C12 memiliki potensi sebagai antidiare dan meningkatkan sistem imun (imunomodulator). BAL *L. fermentum* 2B4 lebih berpotensi sebagai antidiare dan imunomodulator dibandingkan *L. plantarum* 2C12.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional Republik Indonesia, yang telah memberikan dana penelitian melalui Hibah Kompetensi, Nomor Kontrak: 409/SP 2 H/DP2M/VI/2010, tanggal 11 Juni 2010, atas nama Made Astawan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aattouri N, Tome BD, Marcos A, Lemonnier D. 2002. Oral ingestion of lactic acid bacteria by rats increases lymphocyte proliferation and interleukin- $\gamma$  production. *Br. J. Nutr* 87: 367-373.
- Anonim. 2008. Profil Kesehatan Indonesia 2007. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Astuti S, Muchtadi D, Astawan M, Purwantara B, Wresdiyati T. 2009. Pengaruh pemberian tepung kedelai kaya isoflavin terhadap kadar malonaldehid (MDA), aktivitas superoksida dismutase (SOD) testis, dan profil Cu,Zn-SOD tubuli seminiferi testis tikus jantan. *J Teknol dan Pangan* 10: 129-134.
- AOAC. 1989. Official Methods of Analysis in The Association of Official Agricultural Chemist. Association of Official Agricultural Chemist. Washington D.C.
- Arief I, Maheswari RRA, Nuraini H. 2008. Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Daging Sapi. Makalah Seminar Hasil Penelitian Departemen IPTP. Fak. Peternakan IPB.
- Bellanti JA. 1993. *Imunologi III*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Bourlioux P, Koletzko B, Guarner F, Braesco V. 2003. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium 'The Intelligent Intestine', Paris, June 14<sup>th</sup> 2002. *Am. J Clin Nutr* 78: 675-683.
- Coconnier MH, Bernet MF, Chauviere G, Servin AL. 1993. Adhering heat killed human *Lactobacillus acidophilus*, strain LB, inhibit the process of pathogenicity of diarrheagenic bacteria in cultured human intestinal cells. *J Diarrhoeal Dis. Res* 11:235-242
- Conti M, Morand PC, Levillaind P, Lemonnier A. 1991. Improve fluorometric determination of malonaldehyde. *J Clin Chem. Soc* 103:6472-6477.
- Fuller R. 1989. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol.* 66: 365-378.
- Gackowska L, Michalkiewicz J, Krotkiewski M, Helmin Basa A, Kubiszewska I, Dzierzanowska D. 2006. Combiner effect of different lactic acid bacteria strain on the mode of cytokines pattern expression in human peripheral blood mononuclearcells. *J Physiol and Pharmacol* 57 (9): 13-21.
- Ishibasi N, Yamazaki S. 2001. Probiotics and safety. *Am. J Clin Nutr* 73 (suppl): 465S-470S.
- Kaur IP, Chopra K, Saini A. 2002. Probiotics: potential pharmaceutical applications. *Eur. J Pharm Sci* 15,1-9.
- Koltas IS, Yucebilgic G, Bilgin R, Parsak CK., Sakman G. 2006. Serum malondialdehyde level in patients with Cystic Echinococcosis. *J Saudi Med* 2006. 27: 1703-1705.
- Lampe, Johanna W, Cheryl L. Rock. 2008. Biomarkers and their use in nutrition intervention. Di dalam: Coulston, Ann M. dan Carol Boushey. *Nutrition in The Prevention and Treatment of Disease*. Second Edition. Elsevier Academic Press. London.
- Mayne St. 2003. Antioxidant nutrient and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J Nutr* 133(suppl 3), 933S-940S.
- Mikelsaar M, Mihkel Zilmer. 2009. *Lactobacillus fermentum* ME-3: An antimicrobial and antioxidative probiotic. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 21: 1-27.
- Nababan YMS. 2011. Pengaruh Pemberian Yogurt sinbiotik Fungsional Berbasis Probiotik Lokal terhadap Status Hematologi Tikus Percobaan. [skripsi]. Departemen Ilmu dan teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Roitt IM. 1991. *Essential Immunology*. Blackwell Scientific Publications. Oxford, London, Edinburgh, Boston, Melbourne, Paris.
- Surono, Ingrid S. 2004. Probiotik: Susu Fermentasi dan Kesehatan. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman seluruh Indonesia, Jakarta.
- Steel RGD, Torrie JH. 1995. *Principles and Procedures of Statistic. A Biometrical Approach*. 2<sup>nd</sup> edition. McGraw Hill Book Co., New York.
- Tejasari. 2000. Efek Komponen Bioaktif Oleoresin Rimpang Jahe (*Zingiber officinale Roscoe*) terhadap Fungsi Limfosit secara In Vitro (Disertasi). Program Pascasarjana IPB. Bogor.
- Zein U, Kholid, Josua. 2004. Diare Akut Disebabkan Bakteri. <http://www.litbang.usu.ac.id/modules/php>. [06 Februari 2010].
- Zubillaga M, Weill R, Postaire E, Golman C, Caro R, Boccio J. 2001. Effect of probiotics and functional foods and their use in different disease. *Nutr Res* 21: 569-579.