

AKTIVITAS *Lactobacillus plantarum* ISOLAT ASI TERHADAP IMUNOGLOBULIN (IgA , IgG) PADA TIKUS WISTAR MODEL SEPSIS

Lactobacillus plantarum of BREASTMILK ISOLATE ACTIVITY IN WISTAR RAT'S IMMUNOGLOBULIN (IgA,IgG)

Sri Sinto Dewi¹, Herlisa Anggraini²

¹.Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang
email: sintomun@yahoo.com

².Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah
email: lisa220789@gmail.com

Abstract

Lactat acid bacteria which act as a probiotic was a bacteria who can survive to low pH (gastric acid) and bile. Indigenous lactat acid bacteria have a potency as a Immunostimulator for Immunoglobulin (IgA,IgG) lactat acid bacteria used in this research were isolated from breastmilk (ASI). The purpose of this studi were to understand the immunostimulan effect in wistar rat after affected by the pathogen bacteria, and to get the Lactobacillus plantarum suplementation from breastmilk isolate with Elisa methode. The result of study showed that Lactobacillus plantarum from breastmilk could increase the immunoglobulin (IgA,IgG) in wistar rat and have a potency as a Immunostimulan

Keyword : *Lactobacillus plantarum, Immunoglobulin (IgA,IgG)*

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat/probiotik mempunyai afinitas pengikatan yang tinggi terhadap membran sel epitel mukosa dan dapat bertindak sebagai pembawa antigen, serta mengikat ke jaringan target sehingga dapat mengaktifasi makrofag untuk membangkitkan respon imun mukosa yang dapat diketahui dengan munculnya IgA.

Imunoglobulin A (IgA) adalah imunoglobulin utama yang ditemukan pada mukosa sehingga IgA disebut juga sebagai *secretory immunoglobulin A (sIgA)* karena IgA yang terbentuk akan keluar masuk dalam lumen atau sistem peredaran darah yang selanjutnya akan memacu pembentukan IgG dan IgM. Bakteri probiotik memproduksi IgA sekitar 80% yang ada dalam mukosa usus/lamina propia usus (Galdeano *et al*, 2007). Bakteri probiotik akan memacu aktivasi sel imunokompeten baik makrofag maupun sel dendrit sehingga jaringan limfoid yang ada dalam lamina propia akan memicu sel plasma untuk memproduksi IgA yang berperan dalam sistem imun mukosa. Sehingga bakteri

probiotik dapat dimanfaatkan sebagai imunomodulator dengan menghasilkan IgA dalam mukosa. Masuknya antigen peroral akan merangsang terbentuknya IgA, yang dapat keluar masuk dalam lumen usus atau peredaran darah. Lipopolisakarida (LPS) yang dihasilkan oleh bakteri gram negatif yang merupakan bagian luar dinding sel yang berupa toksin/endotoksin, yang dapat menginduksi terjadinya sepsis. Patofisiologis sepsis dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara sitokin roinflamasi dan antiinflamasi. Produksi sitokin proinflamasi akan menyebabkan peningkatan apoptosis epitel saluran pencernaan yaitu sel efektor imunologis termasuk sel limfosit dan sel dendrit yang akan menurunkan produksi imunoglobulin Presetyo (2010).

Lactobacillus plantarum isolat asi hasil penelitian tahun pertama yang tahan terhadap asam dan garam empedu merupakan bakteri indigeneus yang dapat mengendalikan mikroba pencernaan sehingga dapat mempengaruhi sistem kekebalan pada saluran pencernaan. Tujuan dari penelitian ini untuk menguji

aktivitas imunoglobulin (IgA,IgG) dari *Lactobacillus plantarum* isolat asi yang dapat dikembangkan sebagai imunostimulan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain inkubator, sentrifuge, mikroplate, mikropipet, ELISA reader,

Bahan yang digunakan antara lain isolat *Lactobacillus plantarum*, media MRS cair dan MRS agar

Persiapan Isolat *Lactobacillus plantarum*

Isolat *Lactobacillus plantarum* diremajakan terlebih dahulu, kemudian diperbanyak dalam medium MRS cair pada suhu 37°C selama 12 jam dan dilakukan perhitungan jumlah sel bakteri dengan melakukan pengenceran hingga 10¹⁰. Hasil pengenceran diinokulasikan pada medium MRS agar yang mengandung CaCO₃1% dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x 24 jam pada inkubator CO₂ 5% kepadatan sel untuk mengetahui jumlah sel kultur yang akan disoundekan.

Persiapan bakteri *Vibrio parahaemoliticus*

Bakteri *Vibrio parahaemoliticus* diremajakan pada medium Brain Heart Infusion diinkubasi pada suhu 37C selama 12 jam dan dilakukan perhitungan jumlah sel bakteri dengan melakukan pengenceran hingga 10⁸. Hasil pengenceran diinokulasikan pada medium TCBS agar dan diinkubasi pada inkubator suhu 37C selama 2x24 jam kepadatan sel untuk mengetahui jumlah sel kultur yang akan disoundekan

Perlakuan hewan coba

Hewan coba diadaptasikan selama satu minggu kemudian dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan masing masing 5 ekor tikus.

Kelompok I/K+, tikus diberi bakteri patogen *Vibrio parahaemoliticus* sebanyak 10⁸ sel/ml selama 3 hari (tikus sakit /kontrol positif)

Kelompok II/K-,tikus tanpa diberi bakteri patogen (tikus sehat / kontrol negatif)

Kelompok III/LO, tikus diberi bakteri probiotik 10⁹ sel/ml 1 kali sehari tanpa diberi bakteri patogen

Kelompok IV/LI, tikus diberi probiotik 1 kali sehari dan diberi bakteri patogen

Kelompok V/LII, tikus diberi probiotik 2 kali sehari dan diberi bakteri patogen

Kelompok VI/LIII, tikus diberi probiotik 3 kali sehari dan diberi bakteri patogen. Pemberian probiotik selama 1 minggu, pada hari ke 7 seluruh tikus dibius dengan klorofom untuk diambil darah dari *retroorbitalis* untuk analisis IgA dan IgG.

Uji Imunoglobulin (IgA,IgG) metode ELISA

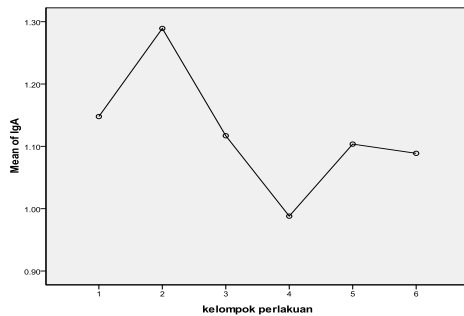
Pengenceran diluent (1:4) yaitu 10 mL diluent ditambah 40 mL buffer atau aquabides. Diluent yang sudah diencerkan dimasukkan kedalam mikrotube sebanyak 495 µl dan 380 µl. Sampel divortex kemudian diambil 5 µl dan dimasukkan kedalam mikrotube 495µl diluent (didapatkan pengenceran 1/100). Dari sampel 1/100 diambil 20 µl dimasukkan kedalam mikrotube 380 µl diluent didapatkan pengenceran 1/2000. Kemudian divortex dan dipipet 100 µl sampel dimasukkan dalam well/sumuran dilakukan secara duplo diinkubasi dalam suhu ruang selama 30 menit dan cuci dengan wash solution pengenceran 20 kali yaitu melakukan pengenceran 1 ml wash solution dengan 19 ml aquabides. Pencucian dilakukan sebanyak 3 – 4 kali dan diisap tissue. Masukkan enzym Antibodi Conjugate yang telah diencerkan yaitu 10 µl antibodi ditambah 990 µl diluent, kemudian diambil 100 µl pada masing-masing sumuran dan diinkubasi pada suhu ruang semala 30 menit. Cuci dengan wash solution seperti diatas sebanyak 3-4 kali diisap tissue. Tambah chromogen substrat solution (ready use) sebanyak 100 µl dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang tempat gelap, ditambah stop solution H₂SO₄ 2 N 100 µl pada tiap sumuran kemudian dibaca dengan Elisa reader panjang gelombang 450 nm

Analisis Data

Data yang berupa kadar IgA dan IgG dianalisis secara statistik dengan bantuan program SPSS versi 15. Uji statistik yang digunakan adalah Independen T tes kemudian dilanjutkan uji *Mann-Whitney* untuk membandingkan antar kelompok perlakuan.

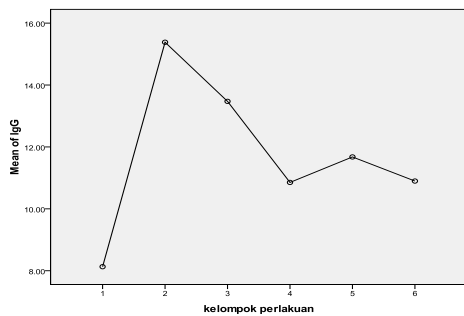
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pembacaan imunoglobulin dengan metode Elisa didapatkan nilai rata-rata imunoglobulin yaitu pada imunoglobulin A menunjukkan peningkatan aktivitas imunoglobulin pada tikus sakit yang diberi *Lactobacillus plantarum* 2 kali sehari kelompok V (gambar 1).



Gambar 1. Grafik rata-rata Imunoglobulin A pada kelompok perlakuan

Hasil nilai rata-rata imunoglobulin G menunjukkan peningkatan pada kelompok V yaitu kelompok yang diberi *Lactobacillus plantarum* 2 kali sehari (gambar 2)



Gambar 2. Grafik rata-rata Imunoglobulin G pada kelompok perlakuan

Berdasarkan nilai rata-rata kelompok perlakuan terdapat peningkatan kadar imunoglobulin pada tikus sakit dan diberi suplementasi *Lactobacillus plantarum* 2 kali sehari.

Berdasarkan uji *Mann-Whitney* dari imunoglobulin A didapatkan hasil *significancy* 0,46. Karena nilai $p > 0,05$ maka kadar imunoglobulin A tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan.

Sedangkan pada imunoglobulin G didapatkan hasil *significancy* 0,047. Karena nilai $p < 0,05$

maka kadar imunoglobulin G berbeda bermakna antar kelompok perlakuan.

Pengaruh antigen/ benda asing melalui sel T maupun sel B berproliferasi dan berdeferensiasi menjadi sel plasma yang mampu membentuk dan melepas Ig(Imunoglobulin) dengan spesifitas yang sama seperti reseptor yang ada pada permukaan sel precursor. Imunoglobulin G banyak ditemukan pada darah/serum.

Bakteri probiotik memproduksi IgA sekitar 80% yang ada dalam mukosa usus/ lamina propia usus. Bakteri probiotik akan memacu aktivasi sel imunokompeten baik makrofag maupun sel dendrit sehingga jaringan limfoid yang ada dalam lamina propia akan memicu sel plasma untuk memproduksi IgA yang berperan dalam sistem imun mukosa. Sehingga dengan demikian *Lactobacillus plantarum* dapat dimanfaatkan sebagai imunostimulan dengan menghasilkan IgA dalam mukosa. Masuknya antigen peroral akan merangsang terbentuknya IgA, yang dapat keluar masuk dalam lumen usus atau peredaran darah. Suplementasi *Lactobacillus plantarum* dengan dosis yang lebih tinggi dimungkinkan dapat meningkatkan kadar imunoglobulin A.

KESIMPULAN

Lactobacillus plantarum isolat ASI mampu meningkatkan aktivitas imunoglobulin (IgA, IgG) pada tikus wistar model sepsis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Artikel ini merupakan bagian dari penelitian Hibah Bersaing tahun 2011 yang dibiayai oleh DIKTI, oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

Abbas KA, Lichtmat A H, Pillai S. 2007. *Celluler and Molecular Immunologi*.

Sixth ed Philadelphia W.B. Saunders Company

Anonim, 2007. *Proliferation Assay*. MTTProtocol, available at

<http://www.google.com>, (November 2007).

- Brown A C, Valiera A. Probiotics and Medical Nutrition Therapy. *Nutr Clin Care*. 2004; 7(2):56-58.
- Burgess, G.W., 1995. *Teknologi ELISA dalam Diagnose dan Penelitian*, diterjemahkan oleh Wajan T Artama, Gadjah Mada University, Jogjakarta, 55-56
- Djide M.N, Wahyudin E. 2008. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Air Susu Ibu, dan Potensinya dalam penurunan kadar kolesterol secara in vitro. *Majalah Farmasi dan Farmakologi* Vol. 12, No. 3- Nopember 2008 (ISSN:1410-7031)
- Ediati S, Mulyaningsih S, Utari E K, Widyaningrum R. 2006. Aktivitas Immunostimulan susu kedelai terhadap Immunoglobulin (IgA, IgG) dan Proliferasi sel Limfosit pada mencit Balb/c yang diinduksi hepatitis A. *Majalah Farmasi Indonesia*. 17(3).
- Galdeano MC, Moreno LA, Vinderola G, Bibas BME, Perdigon G. Mecakinsme Of Immunomodulation Induced by Probiotik Bacteria. *AmJ Clin Vaccine Immunol*. 2007;14;485-92
- Gobel, R.B. 2005. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat. Makalah dalam Kursus Singkat Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat dalam bidang Pangan dan Kesehatan Bagi Staf Akademik PTN Kawasan Timur Indonesia. Universitas Hasanudin. Makasar.
- Martin, R., Olivares, M., Fernandez, L. 2005. Probiotik Potensial of 3 Lactobacii Strains Isolated From Milk, *J. of Human Lactation* 21(8);8-17.
- Prangdimurti E. 2001. Probiotik dan Efek Perlindungannya Terhadap Kanker Kolon. Makalah Falsafah Sains. Institut Pertanian Bogor.
- Purwandhani, S.N. dan Rahayu, E S. 2003. Isolasi dan Seleksi Lactobacillus yang berpotensi sebagai agensia probiotik. *Agritech*;23(2):67-74
- Presetyo D H, Purwanto B. 2010. Efek Probiotik pada kadar IgA Mencit model sepsis. *MKB*. Vol. 42.No.4. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Sudarmo SM Peranan Probiotik dan Prebiotik Dalam Upaya Pencegahan dan Pengobatan Diare Pada Anak. Dalam Kongres Nasional II BKGAI. Bandung: BKGAI, 2003 : 115-131.
- Surono, I.S. 2004. Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia (YAPMMI). Jakarta
- Rahayu E S dan Margino. 1997. Bakteri Asam Laktat: Isolasi dan Identifikasi. Materi Workshop, PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada.