

PENGARUH SUPLEMENTASI SUSU FERMENTASI TERHADAP JUMLAH BAKTERI SEKUM DAN KADAR IgA USUS PADA TIKUS NORMAL DAN TIKUS YANG DISENSITISASI ALERGEN DINITROCHLOROBENZENE

EFFECT OF FERMENTED MILK SUPPLEMENTATION ON TOTAL CECAL BACTERIA AND INTESTINAL IgA LEVEL IN NORMAL RATS AND RATS SENSITIZED BY DINITROCHLOROBENZENE ALLERGENS

Bayu Fakhrial Putera*, Nurliyani, dan Soeparno

Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Fauna No. 3, Bulaksumur, Yogyakarta, 55281

INTISARI

Penelitian bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri asam laktat (BAL) dan *Eschericia coli* (*E. coli*) dalam sekum serta kadar IgA cairan usus pada tikus normal dan tikus yang disensitisasi alergen *dinitrochlorobenzene* (DNCB). Penelitian ini menggunakan tikus Wistar betina umur 6-8 minggu yang disuplementasi susu fermentasi berupa susu *Acidophilus* dan kefir serta kontrol. Variabel yang diamati meliputi jumlah BAL, *E. coli* dalam sekum dan kadar IgA cairan usus tikus normal dan tikus yang disensitisasi alergen DNCB. Analisis data menggunakan Rancangan Acak Lengkap pola searah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi susu fermentasi berupa susu *Acidophilus*, kefir maupun kontrol terhadap jumlah BAL, *E. coli* sekum serta IgA usus tikus baik normal maupun yang disensitisasi alergen DNCB tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P>0,05$). Rerata BAL isi sekum tikus normal dengan suplementasi kefir, susu *Acidophilus* dan kontrol berturut-turut: 8,59; 8,61 dan 8,44 log CFU/g, pada tikus yang disensitisasi alergen DNCB berturut-turut: 8,58; 9,14 dan 8,91 log CFU/g. Rerata *E. coli* isi sekum tikus normal dengan suplementasi kefir, susu *Acidophilus* dan kontrol berturut-turut: 7,14; 7,61 dan 7,05 log CFU/g, pada tikus yang disensitisasi alergen DNCB berturut-turut: 7,63; 7,31 dan 7,25 log CFU/g. Rerata IgA usus tikus normal dengan suplementasi kefir dan kontrol berturut-turut: 883,34 dan 874,84 ng/ml, pada tikus yang disensitisasi alergen DNCB berturut-turut: 907,84 dan 955,47 ng/ml. Berdasarkan hasil tersebut disimpulkan bahwa jumlah BAL dan *E. coli* pada tikus normal yang suplementasi susu fermentasi berbeda dengan jumlah BAL pada yang disensitisasi alergen DNCB. Pemberian kefir pada tikus normal maupun yang disensitisasi alergen DNCB dapat menstimulasi kadar IgA dalam usus.

(Kata kunci: Susu fermentasi, Bakteri asam laktat, *Eschericia coli*, IgA, *Dinitrochlorobenzene* (DNCB))

ABSTRACT

The objectives of this experiment were to determine the number of lactic acid bacteria (LAB) and Eschericia coli (E. coli) in the cecum and intestinal IgA levels in normal rats and rats that were sensitized by dinitrochlorobenzene (DNCB) allergen. This study used female Wistar rats aged 6-8 weeks supplemented with Acidophilus milk, kefir and control. Variables observed included LAB, E. coli in the cecum and intestinal IgA levels of normal rats and rats sensitized by DNCB allergen. The data were analyzed by using a one way analysis of variance from completely randomized design. The results showed that supplementation of fermented milk form Acidophilus milk, kefir or control on the number of LAB, E. coli IgA cecum and intestinal of rats had no effect ($P>0.05$) either in normal or rats that sensitized by DNCB allergen. The mean of LAB content in the cecum of normal rats with kefir supplementation, Acidophilus milk and control was respectively: 8.59; 8.61 and 8.44 log CFU/g, in rats sensitized by DNCB allergen respectively: 8.58 ; 9.14 and 8.91 log CFU/g. The mean of E. coli content of the cecum of normal rats with kefir supplementation, Acidophilus milk and control was respectively: 7.14; 7.61 and 7.05 log CFU/g, in rats that sensitized by DNCB allergen respectively: 7.63; 7.31 and 7.25 log CFU/g. The mean of intestinal IgA normal rats with kefir supplementation and control was respectively: 883.34 and 874.84 ng/ml, in rats that sensitized by DNCB allergen was respectively: 907.84 and 955.47 ng/ml. It was concluded that the number of LAB and E. coli in normal rats supplemented with fermented milk was different from the number of LAB in rats that sensitized by DNCB allergen. Supplementation of kefir in normal rats and those sensitized by DNCB allergen could stimulate levels of IgA in the intestine.

(Keywords: Fermented milk, Lactic acid bacteria, *Eschericia coli*, IgA, *Dinitrochlorobenzene* (DNCB))

* Korespondensi (corresponding author):

Telp. +62 853 2662 1483

E-mail: bayufakhrial@gmail.com

Pendahuluan

Kejadian alergi sangat sering ditemui pada manusia baik di negara-negara berkembang maupun di negara maju. Alergi merupakan bentuk “Th2-disease” yang upaya perbaikannya memerlukan pengembalian pada kondisi Th1 dan Th2 seimbang (Viljanen *et al.*, 2005). Terdapat beberapa cara pencegahan alergi berupa penghindaran faktor resiko seperti pencegahan primer dan sekunder. Pencegahan primer merupakan upaya efektif namun masih sulit dilaksanakan, karena menyangkut rekayasa *in-utero* (Holt dan Jones, 2000), pencegahan sekunder misalnya diet jenis bahan makanan (diet eliminasi) sangat sulit diterapkan di masyarakat luas, karena kepercayaan masyarakat tentang jenis makanan berbeda-beda, sehingga diperlukan cara pencegahan lain yang lebih efektif dan mudah dilaksanakan, tetapi dapat mengatasi masalah alergi.

Pemberian jalur oral merupakan bentuk lain pencegahan alergi yang diharapkan dapat memperbaiki kondisi *homeostasis* sistem respon imun dalam intestinum (Blum dan Schiffrin, 2003), karena mikroflora merupakan parameter utama didalam saluran cerna dan imunitas di mukosa (Cebra, 1999).

Salah satu contoh produk oral mikrobia yang dapat diberikan adalah susu fermentasi. Susu fermentasi berbahan pangan asal ternak seperti susu kambing dapat dimanfaatkan dengan pertimbangan menghindari resiko *lactose intolerance* yang sering terjadi jika mengkonsumsi susu sapi. Gall (1981) melaporkan bahwa susu kambing mempunyai pH yang lebih rendah (6,4) daripada susu sapi (6,7) dan banyaknya kandungan lemak globular yang mempunyai ukuran lebih kecil (Jaouen, 1981) sehingga memungkinkan susu kambing lebih mudah dicerna di dalam tubuh dan mempunyai efek nutrisi yang bagus serta menyehatkan (Hasnain, 1985). Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh suplementasi susu fermentasi terhadap jumlah bakteri asam laktat (BAL) dan *Escherichia coli* (*E. coli*) dalam sekum serta kadar IgA usus tikus normal dan tikus yang disensitisasi alergen *dinitrochlorobenzene* (DNCB). Manfaat penelitian adalah sebagai masukan bagi industri pangan untuk memproduksi pangan fungsional anti alergi berbasis susu kambing.

Materi dan Metode

Waktu penelitian

Penelitian dilakukan pada tanggal 17 Agustus sampai 8 November 2010. Pemeliharaan tikus dan pemberian susu *Acidophilus* dan kefir secara *force feeding* di Laboratorium Penelitian dan Pengujian

Terpadu (LPPT) unit 4. Perhitungan total mikrobia dilakukan di Laboratorium Pangan Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Analisis IgA dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) unit 3 Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Materi

Hewan coba. Tikus jenis Wistar betina umur 6-8 minggu yang diberikan ransum pakan tikus AIN93 (Reeves *et al.*, 1993).

Bahan penelitian. Bahan penelitian adalah susu kambing, bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051, kefir, biji kefir. Bahan-bahan analisis antara lain aquades, NaCl 0,85%, Rat IgA ELISA kit dan media inokulasi: *de Man Rogosa and Sharp* (MRS), *Tryptone bile x-glucuronide* (TBX),

Peralatan penelitian. Peralatan penelitian meliputi: pipet mikro, *vortex*, cawan Petri (*Petri dish*), Bunsen, *Laminar air flow* (LAF), tabung konikel, tabung reaksi, kandang koloni, sonde, *ependorf*, Erlenmeyer, kapas, gunting bedah, pinset bedah, dan botol film.

Metode

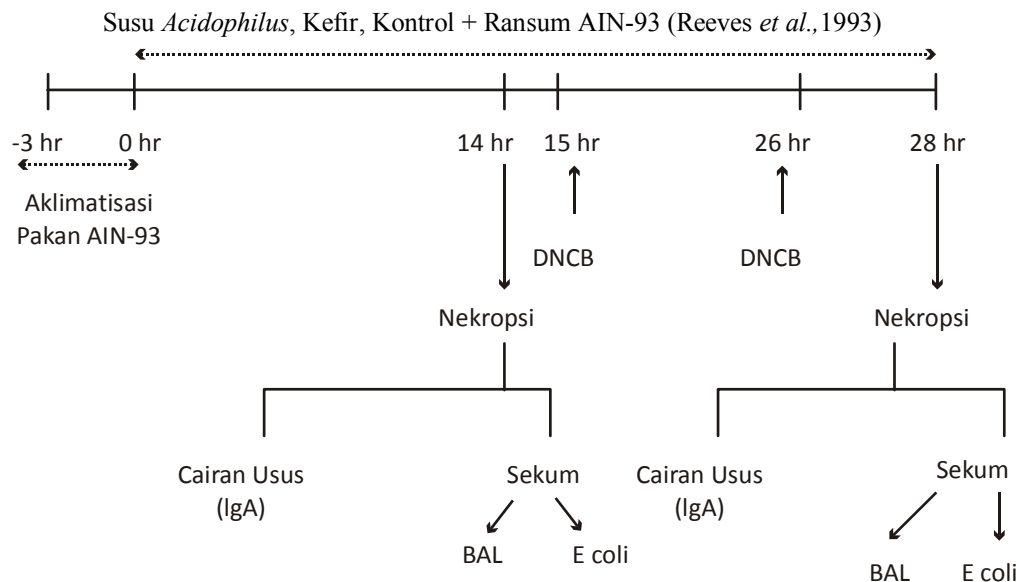
Pembuatan starter untuk susu *Acidophilus* dan kefir. Menurut Heller (2001) prosedur pembuatan starter LA adalah sebagai berikut: bakteri LA diinokulasikan ke dalam 1 ml broth untuk membuat intermediet bakteri, kemudian diambil sebanyak 10 ml MRS broth dengan perbandingan 1 : 4 (ekstrak tomat : MRS broth) kemudian diinkubasi 24 jam, 37°C, selanjutnya diambil sebanyak 5 atau 3% diinokulasikan ke dalam susu steril 100 ml (inkubasi ± 20 jam, 37°C). Hasil peremajaan tersebut disimpan pada suhu 4°C.

Menurut Otbes dan Cagindi (2003), pembuatan kefir secara fermentasi yaitu susu dipasteurisasi kemudian didinginkan sampai suhunya mencapai 20-15°C, lalu diinokulasikan dalam suhu yang sama selanjutnya difermentasi dengan suhu 20-25°C selama 18-24 jam kemudian diseparasi dan dilanjutkan dengan maturasi dan pendinginan. Hasil fermentasi tersebut disimpan dalam suhu 4°C dan siap digunakan.

Percobaan *in vivo*

Diagram alir penelitian pemberian susu fermentasi pada tikus yang disensitisasi DNCB secara *in vivo* disajikan pada gambar.

Pemeliharaan tikus. Hewan coba berupa tikus Wistar betina umur 6-8 minggu sebanyak 36 ekor. Percobaan dibagi menjadi 2 kelompok yaitu sebelum disensitisasi alergen DNCB dan sesudah disensitisasi alergen DNCB. Masing-masing kelompok terdapat 3 perlakuan yaitu kontrol (A),



Kefir (K), dan susu *Acidophilus* (L). Setiap perlakuan menggunakan ulangan sebanyak 6 ekor tikus.

Perhitungan total mikrobia sekum. Total BAL dan total *E. coli* dalam sekum dihitung dengan metode *Total Plate Count*. Feses dikoleksi dicampur dengan NaCl fisiologis (secara aseptis) sebagai pengenceran pertama, kemudian diencerkan secara bertingkat sehingga didapatkan pengenceran 10^{-6} , 10^{-7} , dan 10^{-8} . Setiap pengenceran dihomogenkan, kemudian 1000 μ l cairan sekum dipipet dalam cawan Petri (secara aseptis), lalu dituang media agar selektif TBX untuk pengujian total *E. coli* dan MRS untuk total pengujian BAL sebanyak 15 ml, kemudian digoyang searah jarum jam agar bakteri merata di dalam medium. Sampel diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 44°C (Donovan *et al.*, 1998) untuk pengujian *E. coli*, dan 35°C untuk pengujian BAL. Setelah inkubasi sampel dikeluarkan dan dihitung total koloni yang tumbuh dalam media selektif tersebut. Koloni yang berwarna hijau merupakan *E. coli* (Donovan *et al.*, 1998).

Pengujian respon imun. Langkah pertama yaitu pengambilan cairan usus tikus, langkah kedua yaitu analisis IgA. Pengambilan cairan usus tikus: cairan usus/intestinum tikus diambil secara *flushing* menggunakan 2 ml *Phosphate buffered saline* dingin pH 7, yang mengandung 2 mM *Phenylmethyl sulfonyl fluoride*, 10 μ g *Tosylphenylalanine chloromethyl ketone*, 0,02% NaN_3 , 5 mM *Ethylene-diaminetetraacetic acid*. Cairan *flushing* ditampung dalam tabung *conical* steril 15 ml kemudian disentrifugasi, supernatan diambil dan disimpan dalam suhu -20°C sampai dianalisis.

Analisis IgA: total IgA cairan usus dihitung dengan metode ELISA (*Enzym linked immunorban assay*) dengan prosedur sebagai berikut: semua reagen disiapkan dalam suhu ruang, larutan standar dibuat dengan mencampurkan kalibrator bersama *diluent water* 1x kemudian *dimixing* dengan catatan tidak sampai berbusa. 100 ml larutan standar dipipet ke dalam sumuran dengan perhitungan sebagai berikut:

- Standar 0 (0,0 ng/ml)
- Standar 1 (31,25 ng/ml)
- Standar 2 (62,5 ng/ml)
- Standar 3 (125 ng/ml)
- Standar 4 (250 ng/ml)
- Standar 5 (500 ng/ml)
- Standar 6 (1.000 ng/ml)

Sebanyak 100 ml sampel dipipet ke dalam sumuran yang terdapat dalam *microtitre plate*, selanjutnya *microtitre plate* diinkubasi pada suhu ruang selama tiga puluh (30 ± 2) menit. *Plate* dipastikan dalam kondisi tertutup. Setelah diinkubasi, isi dari sumuran dibuang, kemudian dicuci dengan *washing solution* yang diulangi tiga kali dengan total pencucian sebanyak empat kali. Sebanyak 100 ml konjugate *anti-rat* IgA dipipet ke dalam masing-masing sumuran, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama tiga puluh (30 ± 2) menit. *Plate* disimpan dalam kondisi gelap selama inkubasi dan dipastikan dalam kondisi tertutup, setelah 30 menit *plate* dicuci kembali sebanyak 4 kali. Sebanyak 100 ml larutan substrat *tetramethylbenzidine* dipipet ke masing-masing sumuran, kemudian *plate* diinkubasi lagi selama 10 menit. Setelah 10 menit, ditambahkan 100 μ L *Stop solution* untuk setiap sumuran. Absorbansi dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm.

Analisis data

Pengaruh pemberian susu fermentasi berupa susu *Acidophilus*, kefir maupun kontrol terhadap jumlah bakteri sekum dan IgA usus tikus normal dan tikus yang disensitisasi alergen DNCB diuji dengan analisis variansi dari Rancangan Acak Lengkap pola searah dan dilanjutkan dengan uji *Duncan's New Multiple Range Test* (Steel dan Torrie, 1993).

Hasil dan Pembahasan

Jumlah bakteri isi sekum tikus normal dan tikus yang disensitisasi alergen DNCB

Total BAL isi sekum tikus normal disajikan pada Tabel 1 dan total bakteri asam laktat isi sekum tikus yang disensitisasi alergen DNCB tersaji pada Tabel 2.

Data Tabel 1 menunjukkan bahwa total BAL isi sekum tikus yang disuplementasi susu *Acidophilus* (8,61 log CFU/g) nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) daripada total BAL isi sekum tikus yang disuplementasi kefir (8,59 log CFU/g), maupun kontrol (8,44 log CFU/g). Suplementasi kefir tidak menunjukkan perbedaan jumlah populasi BAL isi sekum dibandingkan dengan kontrol. Dari hasil tersebut dapat dijelaskan bahwa suplementasi susu *Acidophilus* lebih efektif terhadap peningkatan jumlah BAL isi sekum tikus normal. Hal itu dikarenakan susu *Acidophilus* hanya mengandung satu spesies BAL yaitu *Lactobacillus acidophilus* dibandingkan dengan kefir yang mengandung mikroorganisme lebih heterogen sehingga kompetisi antar BAL dalam saluran cerna lebih sedikit. Evanikastris (2003) menyatakan bahwa terdapat dua galur bakteri dalam kefir yaitu *Lactobacillus sp.* dan *Streptococcus sp.*, sehingga interaksi negatif antara

strain BAL sendiri sangat mungkin terjadi. Suatu strain akan menghambat strain yang lain karena pembentukan senyawa metabolit seperti asam organik maupun senyawa antimikroba yang lain atau terjadinya kompetisi dalam memfermentasi karbohidrat maupun nutrisi lain yang terdapat dalam BAL itu sendiri (Surono, 2004).

Data Tabel 2 menunjukkan bahwa total BAL isi sekum tikus yang disensitisasi alergen DNCB tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara suplementasi susu *Acidophilus* (9,14 log CFU/g), kefir (8,58 log CFU/g) maupun kontrol (8,91 log CFU/g). Total BAL isi sekum tikus yang disuplementasi susu *Acidophilus* mempunyai jumlah populasi yang lebih tinggi sebesar 0,23 log CFU/g dibandingkan kontrol dan 0,56 log CFU/g lebih tinggi dibandingkan dengan total BAL isi sekum tikus yang disuplementasi kefir. Kemampuan BAL strain *Lactobacillus acidophilus* dalam menghasilkan senyawa adesi manosa pada dinding selnya yang dapat melekat dalam mukosa usus lebih efektif dibandingkan spesies BAL yang berasal dari kefir (Gross et al., 2008) sehingga BAL yang berasal dari susu *Acidophilus* dapat berkembang dengan baik dan total BAL di dalam usus maupun pada sekum meningkat.

Total BAL isi sekum tikus yang disensitisasi alergen DNCB (Tabel 2) mempunyai populasi yang lebih tinggi berturut-turut sebesar 0,47 (kontrol) dan 0,53 log CFU/g (suplementasi susu *Acidophilus*) dibandingkan total BAL isi sekum tikus normal (Tabel 3), namun total BAL isi sekum tikus yang disuplementasi kefir pada tikus yang disensitisasi alergen DNCB memperlihatkan populasi yang lebih rendah sebesar 0,01 log CFU/g dibandingkan dengan tikus normal. Hal tersebut menjelaskan bahwa sensitisasi allergen menimbulkan reaksi flora

Tabel 1. Total bakteri asam laktat isi sekum tikus normal (*total lactic acid bacteria content of the cecum of normal rat's*)

Suplementasi (<i>supplementation</i>)	BAL (log CFU/g) (<i>LAB (log CFU/g)</i>)
Kontrol (<i>control</i>)	8,44±0,10 ^b
Kefir (<i>kefir</i>)	8,59±0,10 ^b
Susu <i>Acidophilus</i> (<i>Acidophilus milk</i>)	8,61±0,18 ^a

^{a,b} Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) (*different superscripts indicate significant differences (P < 0.05)*).

Tabel 2. Total bakteri asam laktat isi sekum tikus yang disensitisasi alergen *dinitrochlorobenzene* (*total lactic acid bacteria in the rat cecum were sensitized by dinitrochlorobenzene allergens*)

Suplementasi (<i>supplementation</i>)	BAL (log CFU/g) (<i>LAB (log CFU/g)</i>)
Kontrol (<i>control</i>)	8,91±0,48
Kefir (<i>kefir</i>)	8,58±0,72
Susu <i>Acidophilus</i> (<i>Acidophilus milk</i>)	9,14±0,42

non signifikan (*non significant*).

Tabel 3. Total *Escherichia coli* isi sekum tikus normal (*total Escherichia coli content of normal rat cecum*)

Suplementasi (<i>supplementation</i>)	<i>E. coli</i> (log CFU/g)
Kontrol (<i>control</i>)	7,05±1,27
Kefir (<i>kefir</i>)	7,14±1,36
Susu <i>Acidophilus</i> (<i>Acidophilus milk</i>)	7,61±1,83

non signifikan (*non significant*).

normal dalam saluran cerna yang mempengaruhi perubahan jumlah mikroflora dalam saluran pencernaan.

Total *E. coli* isi sekum tikus normal disajikan pada tabel 3 dan total *E. coli* isi sekum tikus yang disensitisasi alergen DNCB disajikan pada Tabel 4. Data Tabel 3 dan Tabel 4 menunjukkan bahwa total *Escherichia coli* (*E. coli*) sekum tikus normal maupun tikus yang disensitisasi alergen DNCB yang disuplementasi susu *Acidophilus*, kefir maupun kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Total *E. coli* yang dihitung merupakan total *E. coli* fecal sehingga jumlah yang didapatkan merupakan *E. coli* yang terdiri atas dua strain yang berbeda yaitu *E. coli* patogen dan *E. coli non* patogen atau yang sering disebut komensal karena berfungsi dalam membantu memecah dan mencerna makanan serta melindungi sel inang dari patogen saluran gastrointestinal. Puppo *et al.* (1997) menyatakan bahwa di dalam saluran pencernaan manusia terdapat spesies *E. coli* yang terdiri dari komensal mikroorganisme dan varietas strain patogen meliputi *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC), *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *Enteroinvasive E. coli* (EIEC), dan strain *urinary tract infection* (UTI). Strain patogenik ditetapkan berdasarkan *serotype* dan berdasarkan virulensi tertentu (toksisitas dan kemampuan melekat pada epitel) serta tipe antigen.

Kadar IgA cairan usus tikus

Data kadar IgA usus tikus normal disajikan pada Tabel 5 dan kadar IgA usus tikus yang disensitisasi alergen DNCB disajikan pada Tabel 6.

Data Tabel 5 menjelaskan bahwa suplementasi kefir pada tikus normal tidak berpengaruh nyata terhadap kenaikan kadar IgA usus dibandingkan dengan kontrol. Kadar IgA usus tikus yang disuplementasi kefir cenderung lebih tinggi daripada kontrol. Hal ini disebabkan oleh permiabilitas mikroflora normal saluran cerna pada tikus yang disuplementasi kefir lebih baik dari pada kontrol sehingga respon imun humoral dalam tubuh terbentuk. Perdigon *et al.* (1995) menyatakan bahwa pemberian oral bakteri asam laktat (*Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus casei*) dan yogurt dapat meningkatkan produksi sekretori IgA (sIgA) dan jumlah sel sIgA dalam usus halus tikus. Kefir

memberikan sumbangan BAL dalam saluran pencernaan yang mampu menghasilkan pH asam sehingga bakteri patogen akan terhambat hidupnya dan keseimbangan mikroflora dapat tercapai (Lee dan Salminen, 1995).

Data tabel 6 menjelaskan suplementasi kefir pada tikus yang disensitisasi alergen DNCB tidak berpengaruh terhadap kenaikan IgA usus. Total IgA usus tikus kontrol cenderung lebih tinggi dibandingkan total IgA usus tikus yang suplementasi kefir. Hal ini disebabkan oleh suplementasi kefir berpengaruh terhadap aktivasi imun seluler (Th1) untuk memproduksi sitokin sehingga mengaktifkan sel *phagosit* yang berperan dalam menghambat kinerja patogen dalam saluran pencernaan serta mengaktifasi makrofag dalam memproduksi sitokin TNF- α , IL-6, IL-12, and IL-18 dalam merangsang terjadinya respon imun (Ray dan Bhunia, 2008). Terbentuknya imun seluler dalam tubuh mengakibatkan mukosa dalam usus menstimulasi IgA plasma sel dalam memproduksi sIgA yang lebih rendah dibandingkan dengan tikus kontrol. Pemberian oral kefir berpengaruh besar terhadap aktivasi sel T, tetapi kurang pada sel B (Murofushi *et al.*, 1986). Pada saat terjadi reaksi inflamasi tipe lambat oleh DNCB, BAL menstimulasi produksi IgA dalam mukosa usus, patogen dapat dihambat dengan fungsi IgA sebagai imun eksklusif.

Produksi imunoglobulin sekretori A (sIgA) merupakan komponen efektor terbaik yang dihasilkan oleh mukosa usus. Dalam kerjasamanya dengan faktor imun *innate* (bawaan), seperti *mucus*, sIgA dalam lumen usus akan mencapai "imun eksklusif" untuk melindungi permukaan mukosa (Blum dan Schiffrin, 2003). Respon imun aktif pada saat alergen masuk dalam tubuh akibatnya protein globulin dalam tubuh terbentuk mengeluarkan respon menangkap adanya alergen. IgA merupakan protein globulin yang bereaksi akibat adanya alergen yang masuk dalam tubuh. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Puri *et al.* (1996) bahwa konsentrasi IgA serum pada tikus yang diberi yogurt jauh lebih tinggi daripada konsentrasi pada tikus yang diberi susu setelah diberi perlakuan *Salmonella*. Penelitian tersebut menyatakan bahwa IgA disekresikan oleh sel B usus memasuki

Tabel 4. Total *Escherichia coli* isi sekum tikus yang disensitisasi alergen dinitrochlorobenzene (total *Escherichia coli* content of the rat cecum were sensitized by dinitrochlorobenzene allergens)

Suplementasi (supplementation)	<i>E. coli</i> (log CFU/g)
Kontrol (control)	7,25±0,44
Kefir (kefir)	7,63±0,21
Susu <i>Acidophilus</i> (<i>Acidophilus</i> milk)	7,31±0,20

non signifikan (non significant).

Tabel 5. Kadar IgA usus tikus normal (intestinal IgA levels of normal rats)

Suplementasi (supplementation)	IgA (ng/ml)
Kontrol (control)	874,84±38,40
Kefir (kefir)	883,34±62,21

non signifikan (not significant).

Tabel 6. Kadar IgA usus tikus yang disensitisasi alergen dinitrochlorobenzene (intestinal IgA level of rat were sensitized by dinitrochlorobenzene allergen)

Suplementasi (supplementation)	IgA (ng/ml)
Kontrol (control)	955,47±33,78
Kefir (kefir)	907,84±38,66

non signifikan (not significant).

sirkulasi karena adanya tantangan antigen. Viljanen et al. (2005) menyatakan bahwa bayi yang terkena Eczema (*Atopic dermatitis*) dan *Cow Milk Allergy*, secara intensif diterapi dengan probiotik (*Lactobacillus sp*) terbukti kadar IgA dalam ususnya mengalami peningkatan.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa suplementasi susu fermentasi pada tikus normal maupun tikus yang disensitisasi alergen DNCB tidak memperlihatkan perbedaan total BAL dan total *E. coli* dalam sekum serta kadar IgA usus antar perlakuan susu fermentasi. Total BAL, total *E. coli* sekum serta kadar IgA usus tikus yang disensitisasi alergen DNCB lebih tinggi dibandingkan tikus normal. Suplementasi susu *Acidophilus* meningkatkan jumlah BAL dalam sekum.

Saran

Dosis pemberian susu fermentasi yang diberikan ke tikus perlu dikaji lebih mendalam untuk mendapatkan hasil yang lebih optimal.

Daftar Pustaka

Blum, S. and E.J. Schiffrin. 2003. Intestinal microflora and homeostasis of the mucosal immune response: implications for probiotic bacteria?. *Curr. Issues Intest. Microbiol.* 4: 53-60.

Cebra, J.J. 1999. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am. J. Clin. Nutr.* 69: 1046-1051.

Donovan, T. J., S. Gallacher, N. J. Andrews, M. H. Greenwood, J. Graham, J. E. Russell, D. Roberts, and R. Lee. 1998. Modification of the standard method used in the United Kingdom for counting *Escherichia coli* in live bivalve molluscs. *Commun. Dis. Public Health*, 1: 88-96.

Evanikastris. 2003. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari sampel klinis yang berpotensi sebagai probiotik. Tesis. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Gall, C. 1981. Milk Production, In *Goat Production*. Ed. Gall C. Academic Press, London. pp: 309-340.

Gross, G.J. Wildner, A. Schonewille, J.L.W. Rademaker, R. vander Meer, and J. Snel. 2008. Probiotic *Lactobacillus plantarum* 299v doesnot unfavorable phytohemagglutinin induced changes in the rat intestinal microbiota. *Appl. Environ. Microbiol* 74: 5224-5249.

Hasnain, H.U. 1985. Sheep and Goat in Pakistan. FAO, Paper 56.

Heller, K.J. 2001. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms¹⁻³. *Am. J. Clin. Nutr.* 73 (suppl): 374-379.

- Holt, P.G. and C.A. Jones. 2000. The development of the immune system during pregnancy. *Allergy* 55: 688-697.
- Jaouen, L. 1981. Milking and the Technology of Milk and Milk Products. In *Goat Production*. Ed. Gall C. Academic Press, London. P: 345-376.
- Lee, Y.K. and S. Salminen. 1995. The coming of age of probiotics. *Trends in Food Sci. and Technol.* 6: 241-245.
- Murofushi, M., J. Mizuguchi, K. Aibara, and T. Matuhasi. 1986. Immunopotentiative effect of polysaccharide from kefir grain, KGF-C, administered orally in mice. *Immunopharmacology*. 12: 29-35.
- Otbes, S. and O. Cagindi. 2003. Kefir: a probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan J.of. Nutrit.* 2(2): 54-59.
- Perdigón, G., S. Alvarez, M. Rachid, G. Agüero, and N. Gobbato. 1995. Immune system stimulation by probiotics. *J. Dairy Sci.* 78: 1597-1606.
- Puppo, G. M., D.K.R. Karaolis, R. Lan, and P.R. Reeves. 1997. Evolutionary relationships among pathogenic and nonpathogenic *Escherichia coli* strains inferred from multilocus enzyme electrophoresis and *mdh* sequence studies. *Infect. Immun.* 65(7): 2685-2692.
- Puri, P., A. Rattan, R.L. Bijlani, S.C. Mahapatra, and I. Nath. 1996. Splenic and intestinal lymphocyte proliferation response in mice fed milk or yogurt and challenged with *Salmonella tythimurium*. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 47: 391-398.
- Ray, B. and A. Bhunia. 2008. *Fundamental food microbiology fourth edition*. CRC press. New York.
- Reeves, P.G., F.H. Neilsen, and G.C. Fahey, Jr. 1993. AIN-93 Purified diet for laboratory rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the formulation of AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* 123: 1939-1951.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1993. *Prinsip Dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik*. Edisi kedua. Terjemahan oleh B. Sumantri. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Surono, I.S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. PT. Tri Cipta Karya, Jakarta.
- Viljanen, M., M. Kuitunen, T. Haahtela, K. Juntunen, K. Backman, R. Korpela, and E. Savilahti. 2005. Probiotic effects on faecal inflammatory markers and on faecal IgA in food allergic atopic eczema/dermatitis syndrome infants. *Pediatric Allerg. and Immunol.* 16: 65-71.