

EFEK IMUNOSTIMULAN DARI KULTUR KERING LACTOBACILLUS CASEI PADA HEWAN UJI KELINCI ORYCTOLAGUS CUNICULUS JANTAN

Zaraswati Dwyana, Karunia Alie, Gita Srihidayati
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Hasanuddin

ABSTRAK

Upaya untuk meningkatkan produksi imunoglobulin dapat menggunakan imunostimulan yang berasal dari bakteri probiotik *Lactobacillus casei* yang telah dikeringkan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek imunostimulan dari kultur kering *L. casei* pada hewan uji kelinci. Sampel adalah delapan ekor kelinci *Oryctolagus cuniculus* jantan umur 4-5 bulan dengan berat badan 1,5-2 kg dengan kelompok yaitu: Kelompok I diberi kultur *Lactobacillus casei* kering 1 % b/v dengan volume 20 ml/2 kg, Kelompok II diberi kultur *Lactobacillus casei* kering 2,5 % b/v dengan volume 20 ml/2 kg, Kelompok III diberi kultur *Lactobacillus casei* kering 5 % b/v dengan volume 20 ml/2 kg, dan Kelompok IV sebagai kontrol. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata peningkatan aktivitas immunoglobulin M (IgM) setelah perlakuan pada perlakuan Kontrol dengan titer $\frac{1}{4}$ (0,2040), Perlakuan 1% dengan titer $\frac{1}{8}$ (0,8061), Perlakuan 2,5% dengan titer $\frac{1}{64}$ (2,6136), dan perlakuan 5% dengan titer $\frac{1}{16}$ dan $\frac{1}{32}$ (1,7092). Dilakukan uji lanjut dengan Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BNJD) pada kultur *Lactobacillus casei* kering menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kultur 2,5 dengan 5%. Begitu pula antara kultur 5% dengan 1% menunjukkan perbedaan yang signifikan. Antara kultur 2,5% dengan 1% dan kontrol, serta antara 5% dengan kontrol menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan. Sedangkan antara kultur 1% dengan kontrol menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan. Dari hasil ini berarti terjadi peningkatan aktivitas immunoglobulin M (IgM) dengan pemberian kultur *Lactobacillus casei* kering dimana konsentrasi yang paling efektif adalah 2,5%. Pemberian kultur *Lactobacillus casei* kering pada konsentrasi 2,5% b/v dapat meningkatkan aktivitas immunoglobulin M (IgM) lebih besar dibandingkan konsentrasi 5% b/v, 1% b/v pada kelinci *Oryctolagus cuniculus* jantan.

Kata Kunci : Imunoglobulin, *Lactobacillus casei*

PENDAHULUAN

Imunoglobulin secara alamiah diproduksi oleh tubuh terutama terjadi peningkatan jumlah jika dijumpai antigen dalam darah seperti jika terinfeksi oleh kuman penyakit. Upaya untuk meningkatkan produksi imunoglobulin juga dapat menggunakan imunostimulan yang berasal dari luar tubuh. Saat ini sudah banyak penelitian yang dilakukan terhadap bahan-bahan dari alam yang bisa digunakan untuk pemicu respons imun baik dari tanaman maupun dari bakteri probiotik. Salah satu kelompok bakteri probiotik yang dapat digunakan untuk memicu produksi sel imun adalah bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus*. *Lactobacillus* adalah genus bakteri gram-positif, anaerobik fakultatif atau mikroaerofilik. (Wapedia, 2009).

Dwyana (2009) menjelaskan bahwa penggunaan kultur probiotik *Lactobacillus* selain berfungsi menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* juga dapat memicu respons imun dari pejamu sehingga keberhasilan eradikasi dapat lebih cepat tercapai tanpa menimbulkan efek samping dari pejamu. Oleh Wang (2004) dalam Dwyana (2009) telah meneliti tentang Bakteriosin, suatu senyawa yang bersifat antimikroba yang dihasilkan oleh *Lactobacillus casei* dapat menekan pertumbuhan

Helicobacter pylori karena *Lactobacillus casei* pada susu asam mempunyai efek antimikroba, efek immunostimulatory, meningkatkan produksi sitokin dan antibodi (slg) A, imunoglobulin G dan meningkatkan aktifitas of Peyer's patch (PP) cells. Penggunaan *Lactobacillus* sebagai imunostimulan dapat dilakukan dengan menggunakan kultur cair maupun kultur yang telah dikeringkan.

Bakteri asam laktat yang tergolong probiotik memiliki dinding sel muramylpeptidase (strain *Lactobacillus*) yang memiliki efek pirogenik dan antitumor, layaknya strain bakteri lainnya, strain probiotik ini memiliki endotoxic lipopolysakarida, peptidoglikan, lipotheichoic acid yang berguna sebagai imunomodulator (Puspawati, 2008). Salah satu jenis bakteri asam laktat yang dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas IgM pada Kelinci adalah kultur *Lactobacillus casei* kering. Jenis bakteri asam laktat ini digunakan untuk meningkatkan produksi immunoglobulin M (IgM) di dalam tubuh.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek imunostimulan dari kultur kering *Lactobacillus casei* pada hewan uji kelinci *Oryctolagus cuniculus* jantan

METODOLOGI PENELITIAN

Pengambilan Sampel

Bakteri asam laktat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Lactobacillus casei* yang berasal dari susu fermentasi . Bakteri *Lactobacillus casei* tumbuh pada temperatur 15 sampai 41⁰ C dan pH lebih besar dari 3,5 (optimum 6,8).*Lactobacillus casei* diinokulasi pada susu segar yang telah dipasteurisasi. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam, kultur ini dikeringkan dalam oven selama 8 jam pada suhu 40⁰C sehingga menjadi kultur *Lactobacillus casei* kering.

UJI AKTIVITAS IGM (HEMAGLUTINASI) SEBELUM IMUNISASI

Sebelum diimunisasi semua kelinci diambil darahnya melalui vena marginalis sebanyak 2 ml, diletakkan dalam suhu kamar selama 1-2 jam, lalu disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm sehingga diperoleh serum. Serum diencerkan dengan PBS dimulai dengan perbandingan 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, dan 1/512. Dari masing-masing perbandingan ini dipipet 25 µl untuk setiap konsentrasi kultur *Lactobacillus casei* kering 1 % b/v, kultur *Lactobacillus casei* kering 2,5 % b/v, kultur *Lactobacillus casei* kering 5 % b/v, dan Kontrol.

Kemudian ditambahkan 50 µl suspensi SDMD 2% pada setiap *well plate* dan diaduk hingga homogen selama 5 menit. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit dan didiamkan pada suhu kamar selama 1x24 jam. Dilakukan pengamatan pengenceran tertinggi dari setiap serum darah kelinci yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba.

PERLAKUAN TERHADAP HEWAN UJI

Perlakuan I (Kontrol)

Kelinci *Oryctolagus cuniculus* jantan diimunisasi dengan 15 ml/ekor SDMD 2% secara intraperitoneal. Setelah itu kelinci jantan diberikan aquadest 20 ml/2 kg bobot badan secara oral selama 5 hari berturut-turut. Setelah 5 hari darah kelinci jantan diambil melalui vena marginalis sebanyak 1 ml.

Perlakuan II (Pemberian Kultur *Lactobacillus casei* kering 1 %)

Kelinci *Oryctolagus cuniculus* jantan diimunisasi dengan 15 ml/ekor SDMD 2% secara intraperitoneal. Setelah itu kelinci jantan kultur *Lactobacillus lactis* kering dengan volume 20 ml/2 kg bobot badan secara oral selama 5 hari berturut-turut. Setelah 5 hari darah kelinci jantan diambil melalui vena marginalis sebanyak 1 ml.

Perlakuan III (Pemberian Kultur *Lactobacillus casei* kering 2,5 %)

Kelinci *Oryctolagus cuniculus* jantan diimunisasi dengan 15 ml/ekor SDMD 2% secara intraperitoneal. Setelah itu kelinci jantan kultur *Lactobacillus lactis* kering dengan volume 20 ml/2 kg bobot badan secara oral selama 5 hari berturut-turut. Setelah 5 hari darah kelinci jantan diambil melalui vena marginalis sebanyak 1 ml.

Perlakuan IV (Pemberian Kultur *Lactobacillus casei* kering 5 %)

Kelinci *Oryctolagus cuniculus* jantan diimunisasi dengan 15 ml/ekor SDMD 2% secara intraperitoneal. Setelah itu kelinci jantan kultur *Lactobacillus lactis* kering dengan volume 20 ml/2 kg bobot badan secara oral selama 5 hari berturut-turut. Setelah 5 hari darah kelinci jantan diambil melalui vena marginalis sebanyak 1 ml.

Uji Aktivitas Imunoglobulin M (IgM) setelah Imunisasi

Darah tiap-tiap kelinci sebanyak 1 ml, diletakkan dalam suhu kamar selama 1-2 jam, lalu disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm sehingga diperoleh serum, lalu diencerkan dengan PBS dimulai dengan perbandingan 1/4,

1/8, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512. Masing-masing perbandingan pengenceran ini dipipet 50 µl ke dalam plate mikrotiter (*Well Plate 96*) untuk setiap perlakuan. Setelah itu ditambahkan 50 µl suspensi SDMD 2% dalam *well plate*, dihomogenkan selama 5 menit. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit, lalu didiamkan selama 1 x 24 jam pada suhu kamar.

Setelah itu dilakukan pengamatan pengenceran tertinggi dari setiap serum darah kelinci jantan yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba. Dalam pembacaan titer hemaglutinin, hemaglutinasi dianggap positif jika seluruh atau sebagian besar permukaan yang cekung dasar lempeng tetes ditutupi oleh lapisan SDMD secara merata. Titer hemaglutinin dinyatakan sebagai kebalikan pengenceran serum yang masih menunjukkan hemaglutinasi.

Pengumpulan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan pengenceran tertinggi serum darah kelinci yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba dikumpulkan yang selanjutnya dianalisa secara statistika dengan menggunakan rancangan percobaan. Metode rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan terdiri atas kontrol, kultur 1%, kultur 2,5%, dan kultur 5% dengan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 2 kali.

Hasil Dan Pembahasan

Sampel kultur *Lactobacillus casei* kering yang telah disiapkan kemudian diberikan secara oral pada kelinci selama 5 hari berturut-turut, yang sebelumnya telah diinduksikan antigen berupa SDMD 2% sebanyak 15 ml secara intraperitoneal. Pada hari keenam setelah diinduksi, darah kelinci kembali diambil melalui vena marginalis telinga untuk pengujian IgM, IgM berada di dalam darah hari kelima (Alifah, 2004). Kadar IgM mencapai puncaknya setelah 7 hari. Enam sampai tujuh hari setelah pemaparan, dalam serum mulai dapat dideteksi IgG, oleh karena itu darah untuk pengukuran IgM diambil lima hari setelah pemberian SDMD atau pemaparan antigen (Multazam, 2006).

Darah yang telah diambil didiamkan pada suhu kamar selama 1-2 jam. Setelah itu disentrifuge untuk memisahkan antara serum dan plasmanya. Pengambilan darah untuk pengukuran IgM harus dilakukan sesuai dengan hari yang ditentukan

setelah pemberian SDMD sebab IgM terbentuk sekitar 5 – 7 hari setelah pemberian antigen. Selama kurun waktu tersebut, diharapkan di dalam tubuh kelinci akan terjadi interaksi antara antigen dengan sel B sehingga sel B akan berproliferasi menjadi sel plasma yang akhirnya akan membentuk antibodi, yang dalam hal ini adalah IgM (Djafar, 2010). Serum yang didapat kemudian diuji hemaglutinasi pada sumur wheel plate dengan menggunakan antibodi SDMD 2% (Wahyuni, 2008).

Tabel 1. Data Aglutinasi dalam mikrotitrasi Aktivitas Immunoglobulin M Awal pada Kelinci *Oryctolagus cuniculus* Jantan sebelum pemberian kultur *Lactobacillus casei* kering

Pengenceran serum	Hewan Uji Sebelum Pemberian Kultur <i>Lactobacillus casei</i> Kering																							
	K _{0A}			K _{0B}			K _{1A}			K _{1B}			K _{2,5A}			K _{2,5B}			K _{5A}			K _{5B}		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1/512	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/256	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/128	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
1/4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan:

- K_{0A} = Kelinci A tanpa pemberian kultur *L. casei* kering
- K_{0B} = Kelinci B tanpa pemberian kultur *L. casei* kering
- K_{1A} = Kelinci A untuk pemberian kultur *L. casei* kering 1% b/v
- K_{1B} = Kelinci B untuk pemberian kultur *L. casei* kering 1% b/v
- K_{2,5A} = Kelinci A untuk pemberian kultur *L. casei* kering 2,5% b/v
- K_{2,5B} = Kelinci B untuk pemberian kultur *L. casei* kering 2,5% b/v
- K_{5A} = Kelinci A untuk pemberian kultur *L. casei* kering 5% b/v
- K_{5B} = Kelinci B untuk pemberian kultur *L. casei* kering 5% b/v

Dari hasil pengamatan titer aglutinasi pada Tabel 1, tidak menunjukkan terjadinya peningkatan aktivitas Immunoglobulin M (IgM) secara signifikan. Kemungkinan karena pada saat dilakukan uji aglutinasi awal pembentukan antibodi kelinci belum diinduksi dengan antigen.

Tabel 2. Data Aglutinasi dalam mikrotitrasi Aktivitas Immunoglobulin M pada Kelinci *Oryctolagus cuniculus* Jantan setelah pemberian kultur *Lactobacillus casei* kering

Pengenceran serum	Hewan Uji Setelah Pemberian Kultur <i>Lactobacillus casei</i> Kering																							
	K _{ALC} ₀			K _{BLC} ₀			K _{ALC} ₁			K _{BLC} ₁			K _{ALC} _{2,5}			K _{BLC} _{2,5}			K _{ALC} ₅			K _{BLC} ₅		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1/512	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/256	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/128	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
1/32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
1/16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
1/8	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan:

- K_{ALC}₀ = Kelinci A tanpa pemberian kultur *L. casei* kering
- K_{BLC}₀ = Kelinci B tanpa pemberian kultur *L. casei* kering
- K_{ALC}₁ = Kelinci A setelah pemberian kultur *L. casei* kering 1% b/v
- K_{BLC}₁ = Kelinci B setelah pemberian kultur *L. casei* kering 1% b/v
- K_{ALC}_{2,5} = Kelinci A setelah pemberian kultur *L. casei* kering 2,5% b/v
- K_{BLC}_{2,5} = Kelinci B setelah pemberian kultur *L. casei* kering 2,5% b/v
- K_{ALC}₅ = Kelinci A setelah pemberian kultur *L. casei* kering 5% b/v
- K_{BLC}₅ = Kelinci B setelah pemberian kultur *L. casei* kering 5% b/v

Berdasarkan analisis statistika dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) menunjukkan rata-rata peningkatan aktivitas immunoglobulin M (IgM) setelah perlakuan pada perlakuan. Kontrol dengan titer 1/4 (0,2040), Perlakuan 1% dengan titer 1/8 (0,8061), Perlakuan 2,5% dengan titer 1/64 (2,6136), dan perlakuan 5% dengan titer 1/16 dan 1/32 (1,7092).Pemberian kultur *Lactobacillus casei* kering menunjukkan perbedaan yang sangat nyata terhadap peningkatan aktivitas Immunoglobulin M (IgM) yang dapat dilihat dari nilai F hitung yang lebih besar dari F tabel ($p > 0,001$).

Dilakukan uji lanjut menggunakan Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND) antara perlakuan kontrol dan kelompok perlakuan. Pemberian kultur konsentrasi *Lactobacillus casei* kering 1%, 2,5% dan 5% b/v menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kultur 2,5 dengan 5%. Begitupula antara kultur 5% dengan 1% menunjukkan perbedaan yang signifikan. Antara kultur 2,5% dengan 1% dan

kontrol, serta antara 5% dengan kontrol menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan. Sedangkan antara kultur 1% dengan kontrol menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan. Dari hasil ini berarti terjadi peningkatan aktivitas immunoglobulin M (IgM) dengan pemberian.

Dari penelitian ini dapat dinyatakan bahwa pemberian kultur *Lactobacillus casei* kering dapat meningkatkan respon imun, yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan titer antibodi. Selain itu, melalui pengadaan *starter* kering yang mudah di produksi, murah dan mampu menjaga efektivitas kerja bakteri, diharapkan dapat lebih mudah memperoleh starter tersebut dalam meningkatkan aktivitas imun dalam tubuh.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data secara statistika, maka disimpulkan bahwa kultur *Lactobacillus casei* kering pada konsentrasi 2,5% b/v dapat meningkatkan aktivitas immunoglobulin M (IgM) lebih besar dibandingkan konsentrasi 5% b/v, 1% b/v pada kelinci *Oryctolagus cuniculus* jantan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Djafar, W. Z., 2010. *Pengaruh Infusa Daun Ceremai (Phyllanthus acidus L.Skeels) terhadap Aktivitas Immunoglobulin M dan Immunoglobulin G Pada Kelinci (Oryctolagus cuniculus)*. Universitas Hasanuddin. Makassar. Hal. 45.
- [2] Dwyana, Z., 2009. *Aktivitas AntiHelicobacter dari Lactobacillus sp.: Potensi sebagai bahan Bioterapi Tukak Lambung*. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- [3] Multazam, R. S, 2006. *Efek Ekstrak Etanol Kayu Kuning Arcangelisia flava (L.) Merr) terhadap Aktivitas Immunoglobulin M pada Mencit (Mus musculus)*. Universitas Hasanuddin. Makassar. Hal.30.
- [4] Puspawati, N.N., 2008. *Penggunaan Berbagai Jenis Bahan Pelindung untuk Memerlihatkan Viabilitas Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Air Susu Ibu (ASI) pada Proses Pengeringan Beku dan Penyimpanan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.Hal.3,11- 13.
- [5] Wapedia, 2009. *Lactobacillus*. <http://wapedia.mobi/id/Lactobacillus>. Diakses pada tanggal 28 November 2009.

[KEMBALI KE DAFTAR ISI](#)