

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI PROBIOTIK TERHADAP
PENURUNAN KADAR INTERLEUKIN 4 PADA TIKUS MODEL**

RINITIS ALERGI

**(Studi pada Sediaan Komersial yang Mengandung *Lactobacillus acidophillus*,
Lactobacillus casei, *Lactobacillus Salivarius*, *Bifidobacterium lactis*,
Lactococcus lactis)**

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Disusun Oleh:

Saskia Rosa Pabliuca

30101607735

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2023**

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI PROBIOTIK TERHADAP PENURUNAN KADAR INTERLEUKIN 4 PADA TIKUS MODEL RINITIS ALERGI

(Studi pada Sediaan Komersial yang Mengandung *Lactobacillus acidophillus*,
Lactobacillus casei, *Lactobacillus Salivarius*, *Bifidobacterium lactis*,
Lactococcus lactis)

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Saskia Rosa Pabliuca

30101607735

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 17 April 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

Anggota Tim Penguji I

dr. Andriana Titiria Widi Wardani
Sardjana, Sp.THT-BKL., M.Si., Med

dr. Agung Sulistyanto Sp.THT-BKL

Pembimbing II

Anggota Tim Penguji II

dr. Iwang Yusuf, M.Si

dr. Nurina Tyagita, M.Biomed

Semarang, 14 Agustus 2023

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF.

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini saya:

Nama : Saskia Rosa pabliuca

NIM : 30101607735

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

“PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI PROBIOTIK TERHADAP PENURUNAN KADAR INTERLEUKIN 4 PADA TIKUS MODEL RINITIS ALERGI (Studi pada Sediaan Komersial yang Mengandung *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactococcus lactis*)”

Adalah penel karya skripsi Saya dan dengan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau Sebagian besar karya tulis orang tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Semarang, 17 April 2023

Yang menyatakan,



Saskia Rosa Pabliuca

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirobbil'alamin, Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh pemberian kombinasi probiotik terhadap penurunan kadar interleukin 4 pada tikus model rinitis alergi (Studi pada sediaan komersial yang mengandung *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactococcus lactis*)” sebagai persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

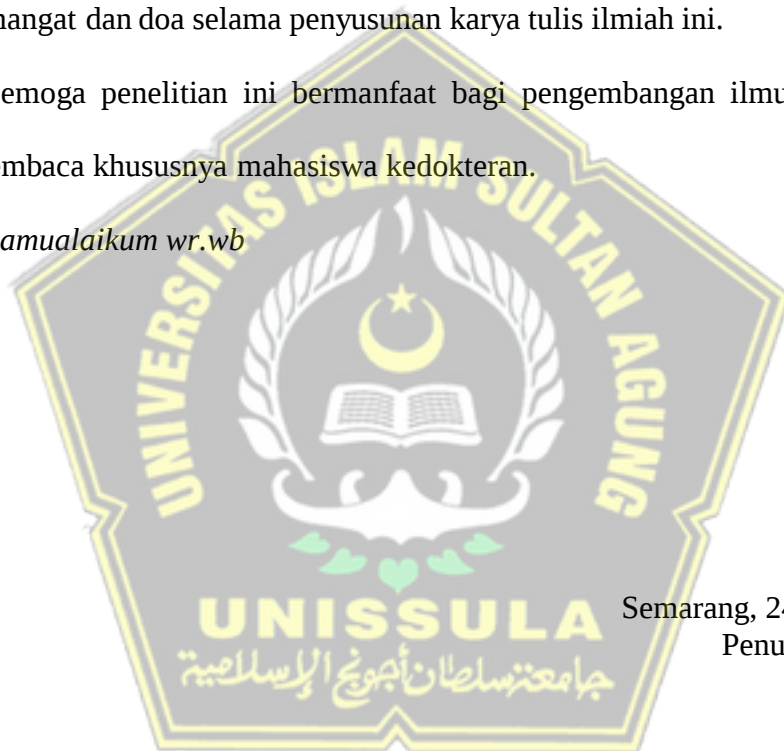
Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF.,SH selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr. dr. Andriana Tjitria Widi Wardhani Sarjana, Sp.THT-BKL., M.Si.Med selaku pembimbing I yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, ilmu, serta kesabarannya dalam memberikan bimbingan, nasihat, sehingga karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan.
3. dr. Iwang Yusuf, M.Si selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, ilmu, serta kesabarannya dalam memberikan bimbingan, nasihat, sehingga karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan.
4. dr. Agung Sulistyanto Sp.THT-KL selaku dosen penguji I yang telah memberikan masukan, ilmu, arahan, dan saran serta kesabarannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini hingga akhir.

5. dr. Nurina Tyagita, M.Biomed selaku dosen penguji ke II yang telah memberikan masukan, ilmu, arahan, dan saran serta kesabarannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini hingga akhir.
6. Ayahanda, ibu dan adik-adik saya telah memberikan doa, dukungan serta fasilitas dan motivasi dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini.
7. Kelompok Skripsi saya dan teman-teman saya yang telah memberikan semangat dan doa selama penyusunan karya tulis ilmiah ini.

Semoga penelitian ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan para pembaca khususnya mahasiswa kedokteran.

Wassalamualaikum wr.wb



Semarang, 24 Juli 2023
Penulis,

Saskia Rosa Pabliuca

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
INTISARI.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
1.4.1. Manfaat Teoritis	4
1.4.2. Manfaat Praktis	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Interleukin 4	6
2.2. Rinitis Alergi.....	7
2.2.1. Definisi.....	7
2.2.2. Etiopatofisiologi	8
2.2.3. Gejala Rinitis Alergi	9
2.2.4. Diagnosa Rinitis Alergi.....	10
2.3. Tikus Model Rinitis Alergi	11
2.4. Alergen.....	12
2.4.1. Ovalbumin.....	12
2.5. Cetirizine.....	13
2.5.1. Definisi Cetirizine	13
2.5.2. Hubungan Cetirizine dengan Interleukin 4 (IL 4).....	13
2.6. Probiotik.....	14
2.6.1. Definisi.....	14
2.6.2. Mekanisme Aksi Probiotik.....	15
2.6.3. Kombinasi Probiotik	16
2.7. Hubungan Kombinasi Probiotik terhadap Kadar Interleukin 4 (IL4) pada Rinitis Alergi	21
2.8. Kerangka Teori	23
2.9. Kerangka Konsep.....	23
2.10. Hipotesis	24
BAB III METODE PENELITIAN.....	25
3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	25

3.2.	Variabel dan Definisi Operasional.....	25
3.2.1.	Variabel.....	25
3.2.2.	Definisi Operasional.....	26
3.3.	Populasi dan Sampel Penelitian.....	27
3.3.1.	Populasi Penelitian.....	27
3.3.2.	Sampel.....	28
3.4.	Instrumen dan Bahan Penelitian.....	28
3.4.1.	Instrumen Penelitian.....	28
3.4.2.	Bahan Penelitian.....	29
3.5.	Cara Penelitian.....	30
3.5.1.	Pengajuan <i>Ethical Clearance</i>	30
3.5.2.	Dosis Probiotik.....	30
3.5.3.	Dosis Cetirizine.....	30
3.5.4.	Persiapan Hewan Coba.....	31
3.5.5.	Pembuatan Hewan Coba Rinitis Alergi.....	31
3.5.6.	Kelompok Perlakuan Hewan Coba.....	32
3.5.7.	Lama Perlakuan.....	32
3.5.8.	Pengukuran Variabel Penelitian.....	33
3.6.	Tempat dan Waktu Pelaksanaan.....	33
3.6.1.	Tempat Penelitian.....	33
3.6.2.	Waktu Penelitian.....	33
3.7.	Alur Penelitian.....	34
3.8.	Analisis Hasil.....	35
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
4.1.	Hasil Penelitian.....	36
4.2.	Pembahasan.....	39
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	44
5.1.	Kesimpulan.....	44
5.2.	Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA		46
LAMPIRAN		50

DAFTAR SINGKATAN



ACE	: <i>Angiotensin</i>
ARIA	: <i>The Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma</i>
CD 4	: <i>Clustur Diferensiasi 4</i>
CD 23	: <i>Clusters of differentiation</i>
ELISA	: <i>Enzym linked immunoassay</i>
EPO	: <i>Eosinophil Peroxidase</i>
IG E	: <i>Immunoglobulin E</i>
IFN c	: <i>Interferon Umum</i>
IFN y	: <i>Interferon Gamma</i>
IL 4	: <i>Interleukin 4</i>
IL 4 R α	: <i>Interleukin 4 reseptor alfa</i>
IL 12	: <i>Interleukin 12</i>
IL 13	: <i>Interleukin 13</i>
IL 13R α 1	: <i>Interleukin 13 alfa 1</i>
IL 5	: <i>Interleukin 5</i>
IL 10	: <i>Interleukin 10</i>
LCS	: <i>Lactobacillus casei Shirota</i>
MBP	: <i>Mayor Basic protein</i>
NSAID	: <i>Anti Inflamasi Non Steroid</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
TH1	: <i>T helper Tipe 1</i>
TH2	: <i>T helper Tipe 2</i>
TH 17	: <i>T Helper 17</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
Yc	: <i>Gamma Umum</i>

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Pensinyalan interleukin 4 (IL4)	7
Gambar 2.2.	Skema <i>early-phase</i> dan <i>late-phase</i> pada Patofisiologi Rinitis Alergi	9
Gambar 2.3.	Kerangka Teori	23
Gambar 2.4.	Kerangka Konsep	23
Gambar 3.2.	Lama Perlakuan Penelitian	32
Gambar 3.3.	Alur Penelitian	34
Gambar 4.1.	Hidung Tikus Rinitis Alergi	36
Gambar 4.2.	Rerata Kadar IL 4 Pada Tiap Kelompok S	37



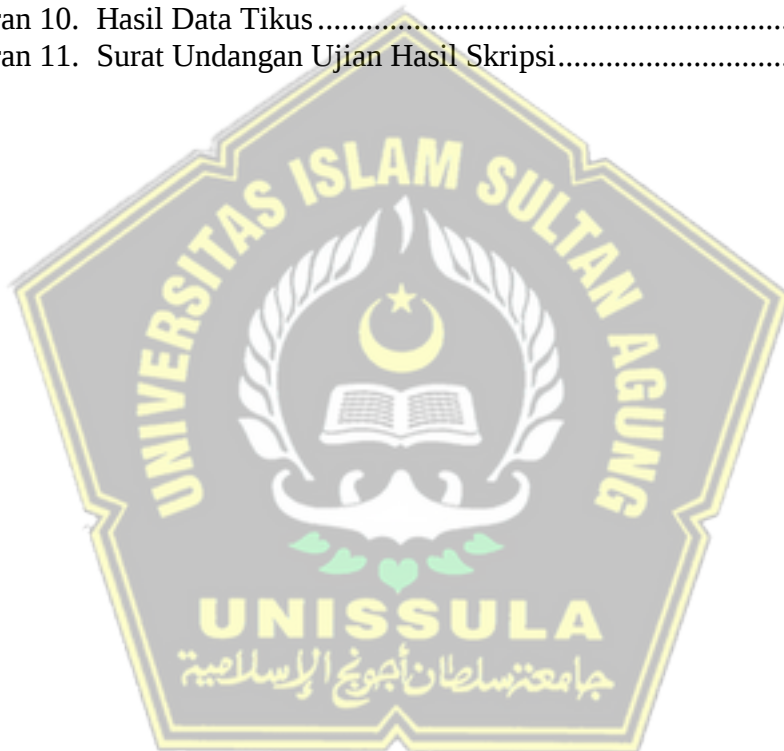
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Hasil Uji Normalitas, Uji Homogenitas dan Uji Hipotesis	37
Tabel 4.2.	Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i>	38



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil Analisis Statistic.....	50
Lampiran 2.	Uji Normalitas	53
Lampiran 3.	Uji Homogenitas.....	53
Lampiran 4.	Uji Hasil Uji Non Parametrik Krustal Wallis	54
Lampiran 5.	Hasil Uji <i>Mann Whitney</i>	55
Lampiran 6.	Dokumentasi Penelitian.....	59
Lampiran 7.	<i>Ethical Clearance</i>	60
Lampiran 8.	Surat Izin Penelitian	61
Lampiran 9.	Surat Bebas Penelitian.....	62
Lampiran 10.	Hasil Data Tikus	63
Lampiran 11.	Surat Undangan Ujian Hasil Skripsi.....	64



INTISARI

Rinitis alergi adalah peradangan pada mukosa nasal akibat proses inflamasi yang disebabkan oleh paparan alergen dengan perantara imunoglobulin E yang memicu eosinofil untuk memfagositosis zat asing dan bakteri penyebab alergi. Rinitis alergi memiliki gejala hidung tersumbat, gatal, dan juga bersin hal ini menjadi masalah kesehatan global yang dapat berdampak pada kualitas hidup bagi penderitanya. Kombinasi probiotik dapat menghilangkan alergi dengan cara meningkatkan ekspresi reseptor interleukin 4 (IL4), sehingga kombinasi probiotik digunakan sebagai obat dalam meringankan gejala rinitis alergi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi probiotik terhadap rinitis alergi dilihat dari kadar interleukin 4 (IL4).

Penelitian ini menggunakan 24 tikus putih jantan galur wistar menggunakan penelitian *post test only control group design* yang dibagi menjadi 4 kelompok, K1 diberikan pakan standar, K2 diberikan diet pakan standar dan ovalbumin sebagai alergen, K3 diberikan pakan standar, ovalbumin dan cetirizine serta kelompok K4 diberikan pakan standard, ovalbumin dan probiotik. Keempat kelompok tersebut dilakukan perlakuan selama 34 hari kemudian diperiksa kadar interleukin 4 (IL4) dengan ELISA.

Rerata interleukin 4 (IL4) pada K1 $74,88 \pm 0.84$ pg/mL, K2 $148,85 \pm 2,13$ pg/mL, K3 $93,45 \pm 3.23$ pg/mL, dan K4 didapatkan $87,73 \pm 2.96$ pg/mL. Pada uji normalitas ditemukan hasil ($p>0,05$) berarti data normal, dan pada uji homogenitas ditemukan ($p<0,05$) yang artinya data tidak homogen sehingga dilakukan uji nonparametrik *krustal wallis* ditemukan hasil 0,000 ($p<0,05$) yang berarti terdapat perbedaan bermakna antar kelompok,.

Pemberian kombinasi probiotik berpengaruh terhadap penurunan kadar interleukin 4 pada tikus jantan galur wistar yang di induksi oleh ovalbumin

Kata kunci : *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus Salivarius*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactococcus lactis*, *Krustal wallis*, *ELISA* (*Enzym linked immunoassay*)

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Rinitis alergi merupakan peradangan pada hidung yang disebabkan oleh reaksi hipersensitivitas yang diperantarai IgE akibat paparan dari alergen. Paparan alergi dalam kelainan rinitis alergi seperti tungau debu, bulu binatang, serbuk sari, jamur dan lain sebagainya yang berada dalam ruangan (Zein *et al.*, 2019). Cetirizine merupakan antihistamin generasi kedua yang bekerja dengan cara mengikat secara reversible reseptor histamin sehingga mampu mempertahankan dalam bentuk inaktif hal ini menyebabkan cetirizine tidak dapat menembus sawar otak yang memicu munculnya efek sedasi (widyastuti *et al.*, 2019). Sitokin anti inflamasi interleukin 4 (IL4) memiliki peran penting dalam penyembuhan rinitis alergi dengan menginduksi Th1 dengan pelepasan reseptor histamin untuk pengembangan makrofag guna melawan adanya bakteri patogen (Villena *et al.*, 2020). Kombinasi probiotik lebih efektif dalam mengurangi respon inflamasi dengan cara mengurangi ekspresi sitokin pro-inflamasi serta secara signifikan meningkatkan ekspresi interleukin 4 (IL4) (Li *et al.*, 2019). kombinasi probiotik pada penderita rinitis alergi menyebabkan perbaikan homeostatis sistem biologi dalam upaya memodulasi sistem imun dengan menyeimbangkan kadar Th1 dan Th2 sehingga menekan munculnya reseptor proinflamasi (Eslami *et al.*, 2020).

Survey yang dilakukan *World Health Organization (WHO)* penderita rinitis alergi di dunia ditemukan sebanyak 400 juta jiwa hal ini diprediksi akan meningkat tiap tahunnya (Abong *et al.*, 2012). Penyakit ini berdampak pada sekitar 10-30% populasi global (Watts *et al.*, 2016). Prevalensi rinitis alergi mempengaruhi 40% populasi di dunia, dengan 23%-30% populasi di Eropa, dan 12%-30% populasi di Amerika Serikat, serta prevalensi rinitis alergi di Indonesia, 1,5-12,3%, Jakarta 26,71%, dan cenderung meningkat setiap tahunnya (Tanaka *et al.*, 2020).

Interleukin 4 (IL4) merupakan faktor utama yang mempercepat sintesis IgE yang berperan dalam meregulasi, proliferasi serta diferensiasi dari sel T (Shirkani *et al.*, 2019). Interleukin 4 (IL4) mempengaruhi sistem imun yang diperantarai oleh kompleks pensinyalan tipe 1 yang bekerja dengan cara Th2 membelokkan sel T sehingga menyebabkan hiperaktivitas saluran nafas yang ditandai dengan peningkatan interleukin 4 (IL4) (Gadani *et al.*, 2019). Interleukin 4 (IL4) yang meningkat akibat adanya paparan alergi dapat diturunkan dengan pemberian probiotik (Ho *et al.*, 2020). Probiotik secara oral menghasilkan perubahan lingkungan imunologis melalui penurunan produksi *Clusters of differentiation 23* (CD23), peningkatan *Interferon y* (IFN y) pada mukosa nasal bagi penderita rinitis alergi musiman. CD23 merupakan reseptor afinitas rendah yang memediasi aktivitas IgE, dimana ekspresi CD23 distimulasi oleh interleukin 4 (IL4) (Ivory *et al.*, 2013). Kombinasi probiotik terdiri dari berbagai bakteri non patogen seperti *Lactobacillus acidophilus* memiliki efek anti-

alergi melalui penghambatan produksi imunoglobulin E spesifik antigen (Remes-Trcoche *et al.*, 2020). *Lactobacillus salivarius* menyebabkan peningkatan pada sel Treg (IL-10, Foxp3, TGF- β) ssupresi sitokin pro-inflamasi oleh Th1 (IFN- γ dan IL-12), dan Th17 (IL-17A, IL-21, dan IL-23) (Zuo *et al.*, 2014). *Lactobacillus casei Shirota (LcS)*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactococcus lactis*, dapat menurunkan regulasi sitokin tipe Th1 dan Th2 yang dapat mengubah keseimbangan kadar IgG dan IgE sehingga berpotensi mengurangi keparahan gejala rinitis alergi musiman (Yang *et al.*, 2013).

Berdasarkan masalah yang telah dijelaskan di atas, maka akan dilakukan penelitian terkait pengaruh pemberian kombinasi probiotik terhadap penurunan kadar interleukin 4 (IL4) pada rinitis alergi.

1.2. Rumusan Masalah

“Adakah pengaruh pemberian kombinasi probiotik (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus Salivarius*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactococcus lactis*) terhadap penurunan kadar Interleukin 4 (IL4) terhadap tikus model rinitis alergi”

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi probiotik terhadap penurunan kadar interleukin 4 (IL4) pada tikus model rinitis alergi.

1.3.2. Tujuan Khusus

- 1.3.2.1. Mengetahui rerata kadar Interleukin 4 (IL4) pada tikus jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standart.
- 1.3.2.2. Mengetahui rerata kadar interleukin 4 (IL4) pada tikus jantan galur Wistar yang mendapat diet pakan standart dan diinduksi ovalbumin.
- 1.3.2.3. Mengetahui rerata kadar interleukin 4 (IL4) pada tikus jantan galur Wistar yang mendapat diet pakan standart, diinduksi oleh ovalbumin, dan diberi cetirizine 0,18mg.
- 1.3.2.4. Mengetahui rerata kadar interleukin 4 (IL4) pada tikus jantan galur Wistar yang mendapat diet pakan standart dan diinduksi oleh ovalbumin , dan diberi kombinasi probiotik dengan dosis 54 mg/KgBB.
- 1.3.2.5. Mengetahui perbedaan rerata kadar interleukin 4 (IL4) pada setiap perlakuan pada penelitian.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai manfaat probiotik dalam pengobatan rinitis alergi serta memberikan informasi mengenai pengembangan ilmu pengaruh pemberian probiotik terhadap rinitis alergi.

1.4.2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan bagi pengembangan penelitian di masa mendatang mengenai pemanfaatan probiotik terhadap pengobatan rinitis alergi.



BAB II

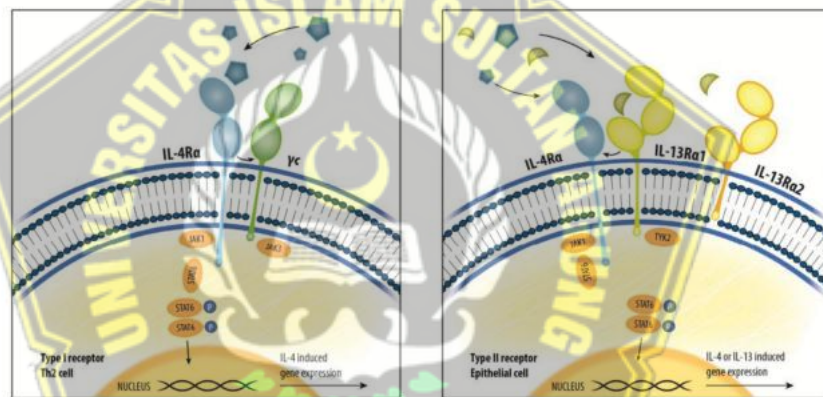
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Interleukin 4

Interleukin 4 (IL4) merupakan peptida empat bundel heliks pendek dari famili rantai reseptor sitokin yang terdiri dari sitokin pleiotropic diproduksi terutama oleh limfosit Th2, basofil, dan sel mast sebagai respons terhadap reseptor yang pengaktifannya dimediasi. Interleukin 4 (IL4) memiliki peran penting dalam mengatur produksi antibodi, hematopoiesis dan inflamasi, serta perkembangan respon sel T efektor dan mempengaruhi beberapa sel target (Silva *et al.*, 2014). Interleukin 4 (IL4) terbukti berperan dalam kelangsungan hidup leukosit di bawah kondisi fisiologis dan patologis seperti Th2 imunitas yang diperantarai oleh sel, pergantian kelas IgE dalam sel B dan perbaikan jaringan serta homeostasis melalui aktivasi makrofag di sebut respon alternatif yaitu jalur makrofag aktivasi yang berbeda dari jalur pro-inflamasi klasik. Efek pensinyalan interleukin 4 (IL4) dimediasi melalui rantai interleukin 4 reseptor alfa (IL 4R α). IL4R α dimerisasi dengan rantai γ c menghasilkan kompleks pensinyalan tipe 1 yang terletak terutama pada sel hematopoietik, atau dengan Reseptor IL 13R α 1 untuk menghasilkan kompleks tipe 2 kemudian diekspresikan pada sel non hematopoietik. Kompleks pensinyalan tipe 1 sangat penting untuk Th2 sebagai pembelokan sel T dan pengembangan makrofag yang diaktifkan secara alternatif , sedangkan kompleks tipe 2 berperan dalam respons non

hematopoietik terhadap interleukin 4 (IL4) dan IL 13 bekerja dalam hiper reaktivitas saluran napas dan produksi lendir (Gadani *et al.*, 2019).

Interleukin 4 (IL4) berperan dalam penarikan eosinofil ke jaringan sehingga eosinofil menjadi aktif akan mengakibatkan terjadinya pelepasan mediator kimia seperti *Major Basic protein (MBP)* dan *Eosinophil Peroxidase (EPO)*. Dampak dari pelepasan mediator tersebut akan menimbulkan tanda dan gejala khas dari rinitis alergi (Purwaningsih *et al.*, 2018)



Gambar 2.1. Pensinyalan interleukin 4 (IL4)
(Gandhi, Pirozzi and Graham, 2017)

2.2. Rinitis Alergi

2.2.1. Definisi

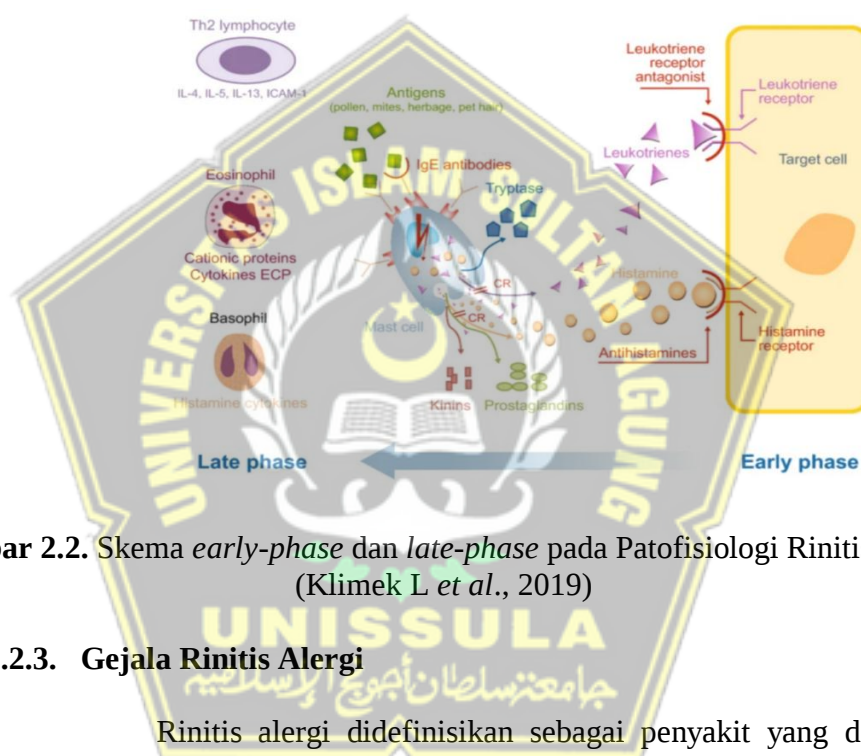
Rinitis alergi (RA) adalah penyakit yang mencakup banyak subtype yang berbeda terutama digunakan untuk menggambarkan pola gejala hidung seperti hidung tersumbat atau obstruksi, rhinorrhea, bersin dan pruritus yang muncul sebagai akibat dari peradangan dan disfungsi mukosa hidung. rinitis alergi terdiri dari

tiga subkelompok yang berbeda yaitu : rinitis alergi, rinitis infeksi, dan rinitis non-alergi, non-infeksi (NRA). Rinitis alergi adalah salah satu hal terpenting dari perjalanan alami penyakit alergi. Rinitis alergi dianggap sebagai salah satu kondisi medis yang paling umum dengan menyebabkan penurunan kualitas hidup yang signifikan terdiri dari gejala saluran napas atas, tidur dan gangguan psikologis, penurunan produktivitas kerja dan penurunan kinerja sekolah. (Liva *et al.*, 2021)

2.2.2. Etiopatofisiologi

Alergen yang terkait dengan rinitis alergi adalah protein yang berasal dari udara terdiri dari partikel seperti serbuk sari, tungau debu, kotoran serangga, bulu binatang, dan jamur. Patofisiologi rinitis alergi sangat kompleks terdiri dari respon alergi fase awal dan akhir yang dikenali oleh reseptor IgE spesifik antigen pada sel mast dan basofil pada individu yang peka. Reaksi fase awal ditandai dengan degranulasi sel mast yang dikaitkan dengan onset cepat (dalam beberapa menit) dengan gejala hidung akut (yaitu bersin dan rinore) dan munculnya gejala pada mata (yaitu gatal, kemerahan, dan berair) yang disebabkan oleh pelepasan histami terutama dari sel mast di mukosa hidung. Reaksi fase akhir berkembang selama beberapa jam setelah terpapar alergen yang ditandai dengan perekrutan seluler basofil, neutrofil, T limfosit, monosit, dan eosinofil dengan pelepasan beberapa mediator termasuk sitokin,

prostaglandin, dan leukotrien yang menyebabkan terbentuknya respon inflamasi. Reaksi inflamasi fase akhir dikaitkan dengan remodeling jaringan, edema jaringan lebih lanjut, dan gejala pada kongesti hidung yang dianggap oleh pasien sebagai salah satu gejala rinitis alergi yang paling mengganggu aktivitas (Bjermer *et al.*, 2019)



Gambar 2.2. Skema *early-phase* dan *late-phase* pada Patofisiologi Rinitis Alergi (Klimek L *et al.*, 2019)

2.2.3. Gejala Rinitis Alergi

Rinitis alergi didefinisikan sebagai penyakit yang dimediasi IgE, respons hipersensitivitas tipe 1 terhadap spektrum alergen lingkungan yang dihirup. Rinitis alergi ditandai dengan gejala :

1. Rinorea anterior atau posterior
2. Hidung tersumbat
3. Gatal pada hidung, dan bersin-bersin yang terjadi lebih dari satu jam pada dua atau lebih hari berturut-turut.

Menurut *The Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma* (ARIA), rinitis alergi dikategorikan berdasarkan durasi gejala, intermiten dan persisten, dan tingkat keparahan, ringan-sedang dan berat. (Silva-Filho *et al.*, 2014).

2.2.4. Diagnosa Rinitis Alergi

Rinitis alergi merupakan kondisi yang sering tidak terdeteksi dalam kehidupan sehari-hari. Anamnesis dan pemeriksaan fisik yang teliti merupakan landasan penting untuk menegakkan diagnosis rinitis alergi, dalam anamnesis sering menggambarkan gejala klasik rinitis alergi seperti hidung tersumbat, hidung gatal, rinore dan bersin. Evaluasi lingkungan berfokus pada alergen umum yang berpotensi relevan termasuk serbuk sari, hewan berbulu, tingkat kelembaban di rumah, serta zat berbahaya potensial lainnya.

Pemeriksaan fisik pasien suspek rinitis alergi harus mencakup penilaian tanda-tanda luar, hidung, telinga, sinus, orofaring posterior, dada dan kulit. Pemeriksaan sinus harus mencakup palpasi sinus untuk bukti nyeri tekan atau penyadapan gigi rahang atas dengan penekan lidah untuk bukti sensitivitas. Orofaring posterior juga harus diperiksa untuk tanda-tanda post nasal drip (akumulasi lendir di bagian belakang hidung dan tenggorokan), dada diperiksa untuk tanda-tanda asma.

Anamnesis dan pemeriksaan fisik yang menyeluruh diperlukan untuk menegakkan diagnosis klinis rinitis alergi. Rinitis alergi dapat

di cek dengan metode Uji prick test. Prosedur uji prick test menempatkan setetes ekstrak alergen tertentu pada kulit lengan bawah atau punggung, kemudian menusuk kulit melalui tetesan tersebut untuk memasukkan ekstrak ke dalam epidermis kemudian dalam waktu 15-20 menit terjadi respon wheal-and-flare (wheal-and-flare merupakan pucat tidak teratur yang dikelilingi oleh area kemerahan) akan terjadi jika tesnya positif. Pengujian biasanya dilakukan dengan menggunakan alergen yang relevan dengan lingkungan pasien (misalnya, serbuk sari, bulu binatang, jamur dan tungau debu rumah).

2.3. Tikus Model Rinitis Alergi

Tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) digunakan sebagai hewan coba karena memiliki kesamaan fisiologis dengan manusia dan memiliki daya adaptasi yang baik dan memiliki respon yang cepat terhadap adanya alergi di bandingkan hewan coba lainnya (Fitria L *et al.*, 2014). Tikus umur 4, 6, 8 bulan adalah tikus yang paling sering di gunakan dalam penelitian karena memiliki fungsi reproduksi dan metabolisme yang baik. Reproduksi tikus galur wistar yaitu (juvenile, immature), 6 minggu untuk stadium pradewasa (preadult), dan 8 minggu untuk stadium dewasa awal (adult, mature). Massa tubuh hewan jantan di buktikan lebih tinggi di bandingkan dengan yang betina dikarenakan terjadi ekspresi androgen (testosteron) yang berperan dalam mengendalikan pertumbuhan dalam tubuh, di mulai dari

masa pubertas dengan beberapa target kulit, otot, tulang, serta metabolisme air dan garam (Small *et al.*, 2018).

Klasifikasi tikus putih galur Wistar (*Rattus norvegicus*) (Myers & Armitage, 2012) :

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata 22

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Subordo : Sciurognathi

Famili : Muridae

Sub-Famili : Murinae

Genus : Rattus

Spesies : Rattus norvegicus

Galur : Wistar

2.4. Alergen

2.4.1. Ovalbumin

Ovalbumin akan menyebar disaluran pencernaan, kulit dan saluran pernafasan. Alergen yang masuk akan di proses oleh *antigen presenting cell (APC)* di endosom kemudian di presentasikan pada *major histocompatibility complex (MHC)* kepada sel limfosit T helper (Th0) dimana Th0 akan mengeluarkan interleukin 4 (IL4) yang merubah sel Th menjadi Th2 (Kim *et al.*, 2015). Ovalbumin secara luas digunakan sebagai alergen melalui sirkulasi darah dalam

membentuk hewan model asma, alergi makanan dan kulit (sun *et al.*, 2019). Ovalbumin secara imunologi digunakan untuk merangsang munculnya alergi pada saluran pernapasan sehingga meningkatkan respon immunoglobulin E dan memicu reaksi inflamasi yang ditandai dengan infiltrasi sel radang pada histopatologi saluran nafas (Xiao *et al.*, 2013).

2.5. Cetirizine

2.5.1. Definisi Cetirizine

Cetirizine merupakan obat golongan antihistamin generasi kedua yang memiliki efek kerja cepat dan lebih poten. Cetirizine digunakan untuk mengurangi gejala kondisi alergi seperti asma, dermatitis atopik, dan rinitis. Penggunaan cetirizine secara oral akan dimetabolisme oleh hati dan diserap oleh usus serta konsentrasi plasma maksimal dicapai dalam waktu 1-2 jam. Cetirizine sekitar 70% dari dosis yang dikonsumsi akan di eksresikan melalui urin dan sekitar 10% melalui feses (Corsico *et al.*, 2019). Cetirizine menghambat secara cepat paparan alergi dengan peningkatan sirkulasi dari leukosit dan eritrosit serta mengurangi peningkatan neutrofil dan monosit akibat paparan dari alergen (Siah, 2020).

2.5.2. Hubungan Cetirizine dengan Interleukin 4 (IL 4)

Cetirizine merupakan obat generasi kedua dari golongan antihistamin H1 dimana obat tersebut bekerja dengan cara mengikat

secara *reversible* reseptor histamin sehingga mampu mempertahankan dalam bentuk inaktif (Widyastuti *et al.*, 2020). Cetirizine menyebabkan kelenjar mukosa dan sel goblet hiperseksesi dan hiperpermeabilitas kapiler meningkat sehingga mendorong munculnya sel inflamasi seperti eosinofil, netrofil, basofil, limfosit di mukosa hidung serta peningkatan sitokin interleukin 4 (IL 4), interleukin 5 (IL 5), dan interleukin 13 (IL13) (Irawati N *et al.*, 2001).

2.6. Probiotik

2.6.1. Definisi

Probiotik berarti 'untuk kehidupan' dan didefinisikan oleh *World Health Organization (WHO)* dan *food and agriculture organization (FAO)* yaitu mikroorganisme hidup yang diberikan dalam jumlah yang memadai sebagai bagian dari makanan dan memberikan manfaat bagi kesehatan. Probiotik memberikan efek dengan memproduksi mikroflora usus pada inang (Yang *et al.*, 2013). Budaya probiotik telah menjadi populer karena kontribusi mereka terhadap kesehatan yang baik. Dalam terapi probiotik, mikroorganisme yang bermanfaat dicerna dan kemudian dimasukkan ke mikroflora usus secara sengaja yang akan menghasilkan sejumlah besar bakteri menguntungkan untuk berpartisipasi dalam persaingan nutrisi dengan bakteri yang berbahaya didalam tubuh. Produk probiotik mungkin mengandung satu atau lebih strain mikroba

terpilih, mikroorganisme probiotik manusia sebagian besar terdiri dari : *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, dan *Enterococcus*. Strain bakteri Gram-positif yang termasuk dalam genus *Bacillus* dan beberapa strain ragi yang termasuk dalam genus *Saccharomyces* umumnya digunakan dalam produk probiotik (Markowiak *et al.*, 2017).

2.6.2. Mekanisme Aksi Probiotik

Terdiri dari empat mekanisme:

- Antagonisme melalui produksi zat antimikroba
- Persaingan dengan patogen untuk adhesi ke epitel dan nutrisi
- Imunomodulasi sel host
- Penghambatan produksi toksin bakteri

Dua mekanisme pertama penting dalam profilaksis dan pengobatan infeksi dan pemeliharaan keseimbangan microbiota usus inang. Strain probiotik memiliki kemampuan untuk bergabung menjadi satu sebagai bentuk mekanisme kerjanya yang dapat menyebabkan pembentukan pelindung yang mencegah bakteri patogen dari kolonisasi epitel. Bakteri probiotik mungkin dapat menempel pada sel epitel sehingga menghalangi patogen. Mekanisme aksi probiotik memberikan efek penting pada kondisi kesehatan inang serta adhesi mikroorganisme probiotik ke sel epitel dapat memicu kaskade pensinyalan yang mengarah ke modulasi imunologis. Alternatif lain yaitu pelepasan beberapa komponen

terlarut yang menyebabkan aktivasi sel imunologis secara langsung atau tidak langsung (melalui sel epitel) memberikan efek dalam pencegahan dan pengobatan penyakit menular, serta peradangan kronis pada saluran pencernaan (Markowiak *et al.*, 2017).

Stimulasi imunologi yang diinduksi probiotik juga dimanifestasikan oleh peningkatan produksi imunoglobulin, peningkatan aktivitas makrofag dan limfosit serta stimulasi produksi interferon. Efek probiotik yaitu penghambatan produksi toksin bakteri, didasarkan pada tindakan yang menyebabkan inaktivasi toksin dan membantu pembuangan toksin dari tubuh. Probiotik membantu dalam detoksifikasi dari tubuh dengan cara absorpsi (beberapa strain dapat mengikat racun ke dinding sel mereka dan mengurangi penyerapan racun usus), tetapi juga dapat melalui metabolisme mikotoksin (misalnya, aflatoksin) oleh mikroorganisme (Upadrasta *et al.*, 2016).

2.6.3. Kombinasi Probiotik

L bio merupakan produk kesehatan yang dikeluarkan oleh PT Lapi Laboratories. L bio mengandung sel hidup $\geq 10^9$ CFU (*Lactobacillus acidophilus* W55, *Lactobacillus casei* W56, *Lactobacillus salivarius* W57, *Bifidobacterium lactis* W51, *Bifidobacterium lactis* W52, *Lactococcus lactis* W58), tepung beras, maltodextrin. L bio memiliki indikasi untuk memelihara kesehatan sistem pencernaan, memelihara flora normal di usus, mengembalikan

keseimbangan fungsi usus saat terjadi abnormalitas atau penyakit. (Farmasi-Id com, 2022).

1. *Lactobacillus Acidophilus*

Lactobacillus acidophilus, awalnya bernama *Bacillus acidophilus*, yang diisolasi dari saluran pencernaan manusia (tinja bayi) pada tahun 1900. *Lactobacillus acidophilus* adalah basil pendek (2–10 µm), Gram-positif yang tumbuh optimal dari suhu 37 hingga 42°C dan dapat berkembang pada suhu setinggi 45°C. *Lactobacillus acidophilus* mencapai pertumbuhan tertinggi dengan pH antara 5,5 dan 6,0 dan pertumbuhannya berhenti pada pH 4,0. *Lactobacillus acidophilus* adalah organisme homofermentatif obligat yang memfermentasi karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat merupakan salah satu *Lactobacillus* yang paling tidak toleran terhadap oksigen. Studi menunjukkan bahwa konsumsi makanan adalah faktor utama dalam memperoleh *Lactobacillus acidophilus* pada manusia. *Lactobacillus acidophilus* memiliki peran pada aktivitas antibakteri terutama pada mekanisme di bawah ini :

a. Memiliki aktivitas yang mirip dengan antibiotik.

Molekul yang disekresikan dalam kultur *Lactobacillus acidophilus* mengerahkan aktivitas pembunuh yang bergantung waktu terhadap bakteri enterovirulen utama (*Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*,

Shigella flexneri, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* enteropatogenik, dan *Helicobacter pylori*), terlokalisasi secara luminal dan bakteri patogen menempel pada brush border atau terinternalisasi dalam sel epitel usus terpolarisasi.

- b. Memiliki aktivitas bakterisida intravakuolar dan bakteriostatik
- c. Menunjukkan efek terhadap *Salmonella typhimurium*.
- d. Memiliki sifat perekat dan sitoprotektif.

Pembuatan biofilm yang melindungi enterosit terhadap *Escherichia coli* yang melekat secara difus yang terkait dengan diare (Remes-Troche, Coss-Adame, & Valdovinos-Díaz, 2020).

2. *Lactobacillus Casei*

Lactobacillus casei adalah Gram-positif, non-motil, non-sporulasi dan bakteri katalase-negatif. Selnya batang berukuran $0,7-1,1 \times 2,0-4,0$ meter, seringkali dengan ujung persegi, yang cenderung membentuk rantai. *Lactobacillus casei* terdiri dari beberapa kelompok (*Lactobacillus casei* yang terkait erat, *Lactobacillus paracasei*, dan *Lactobacillus rhamnosus*) merupakan beberapa spesies probiotik *lactobacillus* yang paling banyak diteliti dan diterapkan (Hill, et al., 2018). Tiga spesies diatas telah dipelajari secara ekstensif, diklasif. *Lactobacillus casei* ditemukan dalam berbagai sayuran dan buah-buahan serta

makanan fermentasi. *Lactobacillus casei* telah dipelajari secara ekstensif sebagai kultur starter fermentasi dan sebagai probiotik. *Lactobacillus casei* secara umum dikenal sebagai organisme yang aman dan berguna sebagai strain probiotik. *Lactobacillus casei* dapat menempel pada mukosa usus dan mampu menjajah usus. Organisme probiotik memiliki kemampuan untuk menempel pada mukosa gastrointestinal inang, kriteria yang digunakan untuk memilih mikroba probiotik dan merupakan prasyarat untuk kolonisasi inang sementara. Efisiensi tinggi dari kolonisasi usus telah diterima sebagai cara yang menarik untuk memperpanjang waktu retensi usus dan efek menguntungkan mikroba pada inang dengan mempromosikan interaksi dengan epitel inang dan sel imun. (Jung , *et al.*, 2021).

3. *Lactobacillus Salivarius*

Lactobacillus salivarius merupakan bakteri non motil anaerob gram positif. Bakteri ini memiliki bentuk batang, warna koloni putih mengkilat dan berbentuk cembung. *Lactobacillus salivarius* termasuk flora normal pada sistem gastro-intestinal tubuh manusia. *Lactobacillus salivarius* pada tikus model kolitis membuktikan adanya peningkatan pada sel Treg (IL-10, Foxp3, TGF- β) supresi sitokin pro-inflamasi oleh Th1 (IFN- γ dan IL-12), dan Th17 (IL-17A, IL-21, dan IL-23) (Zuo *et al.*, 2014). Treg menekan inisiasi interaksi mikrobiota patogen

dengan sel T dan membantu inhibisi dari peningkatan respon imun jaringan hal ini akan menghentikan kerusakan, menghentikan inflamasi yang berlebih dan dapat mengembalikan homeostasis sistem imun (Chowdhury *et al.*, 2019).

4. *Bifidobacterium Lactis*

Bifidobacterium lactis adalah subspecies spesifik non-inang yang ditularkan di antara berbagai hewan. Habitat alaminya adalah saluran pencernaan. Namun, sering dianggap sebagai spesies bukan penghuni usus manusia. Memang hanya sedikit terdeteksi pada kotoran bayi. *Bifidobacterium lactis* tidak dapat menggunakan sumber karbon yang ada di usus manusia, karena memiliki sejumlah hipotetis glikosil hidrolase dan jalur karbohidrat. Namun, beberapa strain *Bifidobacterium lactis* telah terbukti mampu memetabolisme struktur *Galacto-OligoSaccharides* (GOS) (Marsaux, *et al.*, 2020).

5. *Lactococcus Lactis*

Lactococcus lactis penurunan sitokin pro-inflamasi, kemokin, maupun *myeloperoxidase*, serta dapat meningkatkan sitokin anti inflamasi seperti IL-10 dan sel Treg (Kim *et al.*, 2021). *Lactococcus lactis* juga dapat meningkatkan pemulihan fungsi epitel barrier usus dengan meningkatkan integritas epitel usus, serta menyeimbangkan respon imun dan meningkatkan

Treg dengan memproduksi suatu protein, disebut bakteriosin. Bakteriosin bekerja dengan menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang dapat merusak tubuh. Salah satu bakteriosin yang umum ditemukan adalah Nisin, dihasilkan oleh *Lactococcus lactis* ssp (Dugoua *et al.*, 2014).

2.7. Hubungan Kombinasi Probiotik terhadap Kadar Interleukin 4 (IL4) pada Rinitis Alergi

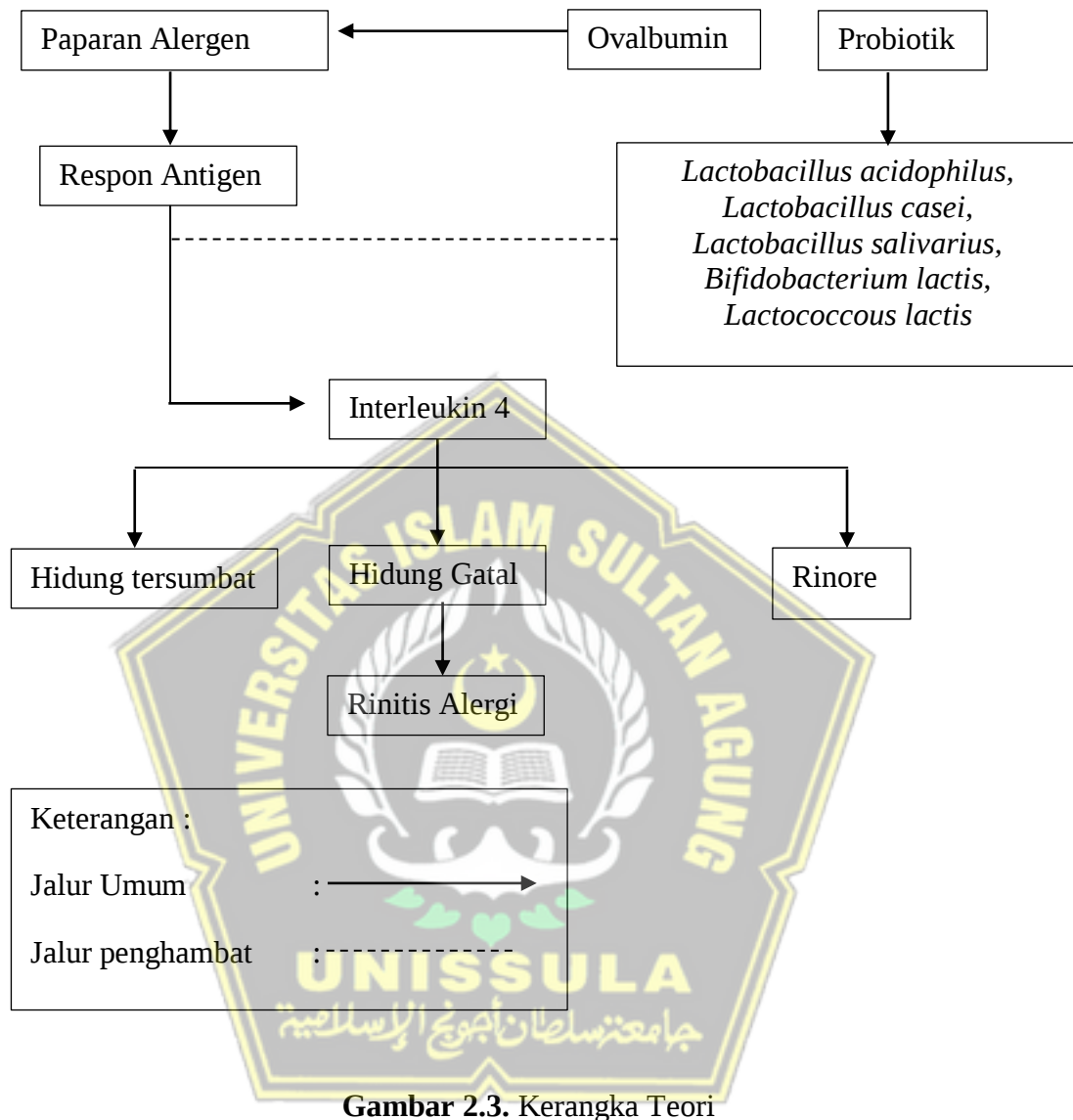
Strain probiotik tunggal yang secara intensif terlibat dalam studi pengobatan sebagian besar rinitis alergi, seperti *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus gasseri*, dan *Bacillus clausii*. Pengobatan dengan menggunakan *Lactobacillus gasseri* berefek dalam pengobatan rinitis alergi, dan efek pengobatan gabungan *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium lactis* juga sedang diteliti. (Yang *et al.*, 2013)

Studi menunjukkan untuk pertama kalinya kemampuan *Lactobacillus casei shirota* dapat menurunkan regulasi sitokin tipe Th1 dan Th2 secara menguntungkan mengubah keseimbangan kadar IgG dan IgE spesifik polen pada rinitis alergi musiman. Data ini menunjukkan bahwa suplementasi probiotik memodulasi respon imun pada rinitis alergi dan mungkin memiliki potensi untuk mengurangi keparahan gejala. Penelitian terdahulu telah menunjukkan bahwa rinitis alergi ditandai oleh polarisasi Th2 dengan

peningkatan kadar sitokin turunan Th2, termasuk IL 4, IL 5, dan IL 13 (Yang *et al.*, 2013).

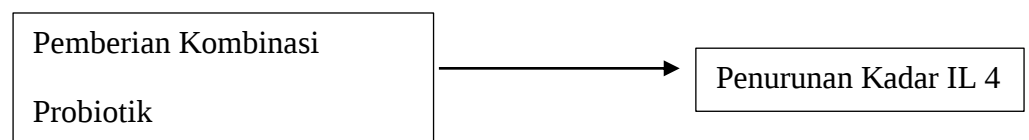
Lactobacillus achidophilus memiliki efek anti alergi melalui penghambatan produksi Immunoglobulin E spesifik antigen. *Lactobacillus achidophilus* selama beberapa minggu terbukti secara signifikan dapat menurunkan kadar interleukin 4 (IL4). *Lactobacillus salivarius* pada tikus model kolitis membuktikan adanya peningkatan pada sel Treg (IL-10, Foxp3, TGF- β) supresi sitokin pro-inflamasi oleh Th1 (IFN- γ dan IL-12), dan Th17 (IL-17A, IL-21, dan IL-23) (Zuo *et al.*, 2014). *Bifidobacterium lactis* menyeimbangkan respon imun Th1 dan Th2 melalui induksi sitokin Th1 yaitu IFN γ sehingga merangsang sitokin anti inflamasi seperti IL 4, IL 10 untuk melawan adanya bakteri patogen dengan cara sel Th0 menuju kearah Th2 untuk menekan produksi sel Th1 sehingga stimulasi Th1 dapat menurunkan resiko alergi (Marsaux, *et al.*, 2020). *Lactococcus lactis* meningkatkan produksi interferon α sehingga memicu peningkatan aktivitas makrofag dan sitokin IL 4, IL 13 untuk memodulasi produksi IFN tipe 1 dan APC hal ini merupakan peningkatan respon imun terhadap alergi (Villena *et al.*, 2020).

2.8. Kerangka Teori



Gambar 2.3. Kerangka Teori

2.9. Kerangka Konsep



Gambar 2.4. Kerangka Konsep

2.10. Hipotesis

Pengaruh pemberian kombinasi probiotik (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactococcus lactis*) terhadap penurunan kadar interleukin 4 (IL4) pada tikus model rinitis alergi.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental, yaitu penelitian yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian suatu perlakuan terhadap subjek penelitian. Desain penelitian yang digunakan yaitu *post-test only control group design* yaitu desain penelitian setidaknya ada dua kelompok salah satunya tidak menerima perlakuan atau intervensi, dan data dikumpulkan pada ukuran hasil setelah perlakuan atau intervensi. Kelompok yang tidak mendapat perlakuan atau intervensi yang diminati adalah kelompok kontrol.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel Bebas

Kombinasi Probiotik

3.2.1.2. Variabel Tergantung

Kadar Interleukin 4 .

3.2.1.3. Variabel prakondisi

Rinitis Alergi

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Kombinasi Probiotik

Bakteri probiotik yang digunakan adalah Kombinasi probiotik *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactococcus lactis* dengan dosis yang telah dikonversi dan diaplikasikan pada hewan coba dengan diberikan secara sondase.

Penetapan dosis probiotik mengacu pada dosis penggunaan L Bio dosis maksimal dewasa yaitu 3 sachet dalam sehari. Satu sachet mengandung 1 gram sehingga dalam sehari memerlukan 3 gram. Sehingga apabila dikonversi ke dosis tikus : $\text{Tikus (200 g)} = 0,018 \times 3000 \text{ mg} = 54 \text{ mg}$. Sehingga dosis probiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah 54 mg/hari. Diberikan mulai dari hari ke 28 sampai hari ke 34.

Skala : Nominal

3.2.2.2. Kadar interleukin 4 (IL4)

kadar Interleukin 4 (IL4) di ambil dari sampel darah vena retro orbital pada tikus sebanyak 5 ml kemudian dilakukan sentrifuse 3000 rpm selama 10 menit menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Hasil dari pembacaan kadar *interleukin 4 (IL4)*

akan dilakukan perbandingan antara tiap kelompok perlakuan.

Skala: Ratio.

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1. Populasi Penelitian

Penelitian menggunakan populasi tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar di Laboratorium Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada.

Kriteria inklusi sebagai berikut :

- Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar
- Umur 6-8 minggu
- Berat badan 200 - 250 gram
- Belum pernah digunakan untuk eksperimen sebelumnya
- Sehat dan bergerak aktif

Kriteria eksklusi sebagai berikut :

- Tikus yang sakit selain rhinitis alergi saat masa perlakuan atau adaptasi
- Tikus yang tidak menunjukkan gejala rinitis alergi dengan pengamatan visual seperti tampak tidak aktif dan hidung terlihat kemerahan

Kriteria *drop out* :

- Tikus yang mati selama masa adaptasi
- Tikus yang mati selama masa penelitian berjalan

3.3.2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang dipelihara dan dikembangkan di Universitas Gadjah Mada. Besar sampel dalam penelitian ini adalah 5 ekor untuk setiap kelompok yang di ambil secara random serta penambahan 1 ekor tiap kelompok untuk mengantisipasi adanya *drop out*. 24 tikus yang di ambil untuk penelitian dan memenuhi standar inklusi serta eksklusi.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen Penelitian

1. Jarum insulin 30G (Terumo, Jepang)
2. Tabung reaksi (Pyrex)
3. Petridish tidak bersekat
4. Pipet ukur
5. Inkubator (Binder, Jerman)
6. Gelas Ukur
7. Beaker Glass
8. Lampu spiritus
9. Cutter
10. Refrigerator
11. Gunting bedah
12. Pinset
13. Botol untuk dekalsifikasi

14. Vibrator (Vortex)
15. Stopwatch (Diamond, Cina) 1
16. Mikrotom (Leica RM 2135)
17. Block holder mikrotom 2
18. Waterbath (Memmert)
19. Hot Plate (Labinco B.V., Belanda)
20. Oven

3.4.2. Bahan Penelitian

1. Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar
2. Probiotik L Bio
3. Ovalbumin
4. Ketamin (KTM 1000)
5. Phosphate Buffer Saline
6. Eter
7. Formalin 10%
8. Alkohol 70%
9. Xylol
10. Gliserin
11. Minuman dan makanan standar tikus wistar (Feedmill-Malindo, Gresik).

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Pengajuan *Ethical Clearence*

Ethical clearance penelitian diajukan ke Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran atau Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

3.5.2. Dosis Probiotik

Penetapan dosis probiotik mengacu pada dosis penggunaan L Bio dengan dosis maksimal dewasa yaitu 3 sachet dalam sehari. Satu sachet mengandung 1 gram sehingga dalam sehari memerlukan 3 gram. Probiotik di berikan dengan cara di larutkan dalam 1 ml air kemudian dilakukan pemberian dengan metode sonde pada tikus.

Apabila dikonversi ke dosis tikus : $\text{Tikus (200 g)} = 0,018 \times 3000 \text{ mg} = 54 \text{ mg/hari}$.

3.5.3. Dosis Cetirizine

Berdasarkan penelitian terapeutik cetirizine diberikan sebanyak 10 mg/hari untuk orang dewasa. Hasil konversi dosis manusia dengan berat badan 70 kg pada tikus dengan berat badan 200 g adalah sebesar 0,018 sehingga dosis pada tikus menjadi 0,18 mg/hari (parisi *et al.*, 2020). Cetirizine dalam bentuk tablet dilarutkan dengan aquades 1 ml dan dihomogenkan dengan batang pengaduk, setelah larut diberikan dengan metode sonde.

3.5.4. Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang memiliki kemampuan reproduksi tinggi, cepat berkembangbiak dan memiliki sifat anatomi dan fisiologisnya terkarakterisasi dengan baik. Tikus dengan berat badan umum tikus jantan berkisar antara 267 – 500 gram dan betina 225 – 325 gram, hidung tumpul, panjang badan 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm (Zailani, 2015).

Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus kemudian ditempatkan secara acak dan diaklimatisasi di dalam kandang individu. Tikus diadaptasikan pada hari pertama sampai hari ke 7 dengan diberi pakan standar dan air secara libitum.

3.5.5. Pembuatan Hewan Coba Rinitis Alergi

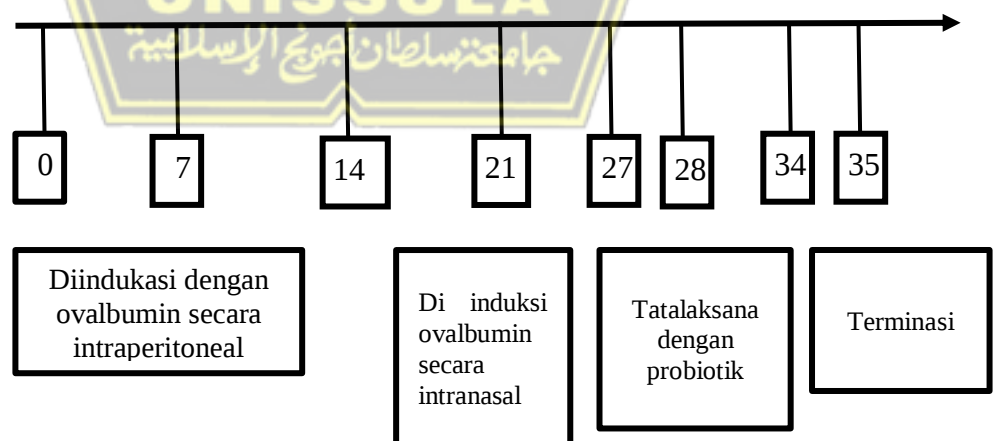
Penelitian menggunakan Tikus Jantan Galur Wistar usia 6-8 minggu dengan berat badan 200-250 gram. Tikus diadaptasi selama 7 hari dan diberi pakan standar. Perlakuan dimulai dengan pemberian 300 µl *phosphate-buffered saline* (PBS) dengan 25 µg ovalbumin + 1mg alumunium hidroksida secara intraperitoneal sebagai sensitasi sistemik. Injeksi diberikan pada hari ke 0,7,14 secara berurutan. Pada hari ke 21, tikus diinokulasi secara intranasal menggunakan 30 µl PBS dengan 500 µg ovalbumin selama 7 hari berturut turut hingga hari ke 27 (Lee *et al.*, 2020).

3.5.6. Kelompok Perlakuan Hewan Coba

- K1: Tikus jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar.
- K2: Tikus jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar, dan diinduksi ovalbumin.
- K3: Tikus jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar, diinduksi ovalbumin, serta diberi cetirizine 0,18mg/hari.
- K4: Tikus jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar, diinduksi ovalbumin, serta diberi probiotik 54 mg/KgBB/hari.

3.5.7. Lama Perlakuan

Tikus diinduksi oleh ovalbumin pada hari ke 0,7,14 serta hari ke 21 selama 7 hari berturut-turut sampai hari ke 27, kemudian diberikan terapi dari hari ke 28 sampai hari ke 34 setelah dilakukan 7 hari adaptasi sebelumnya. Dengan demikian, lama perlakuan penelitian ini adalah 34 hari.



Gambar 3.1. Lama Perlakuan Penelitian

3.5.8. Pengukuran Variabel Penelitian

Sampel darah didapatkan melalui sinus orbitalis untuk mengukur kadar Interleukin 4 pada masing-masing kelompok perlakuan. Sampel plasma darah yang diperoleh kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit pada suhu 2-8°C dan selanjutnya diperiksa dengan menggunakan kit *ELISA* untuk mengukur kadar Interleukin 4 (IL4).

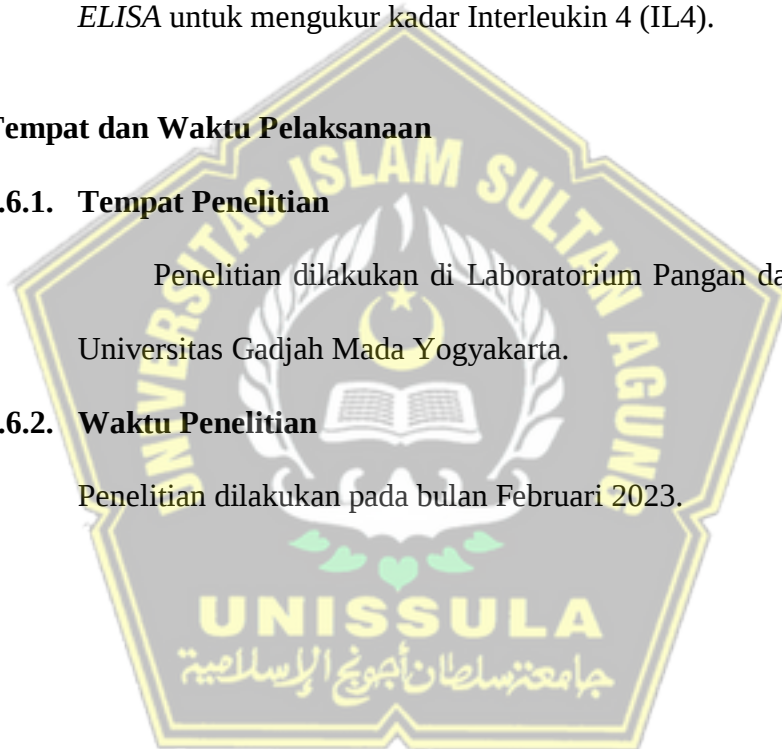
3.6. Tempat dan Waktu Pelaksanaan

3.6.1. Tempat Penelitian

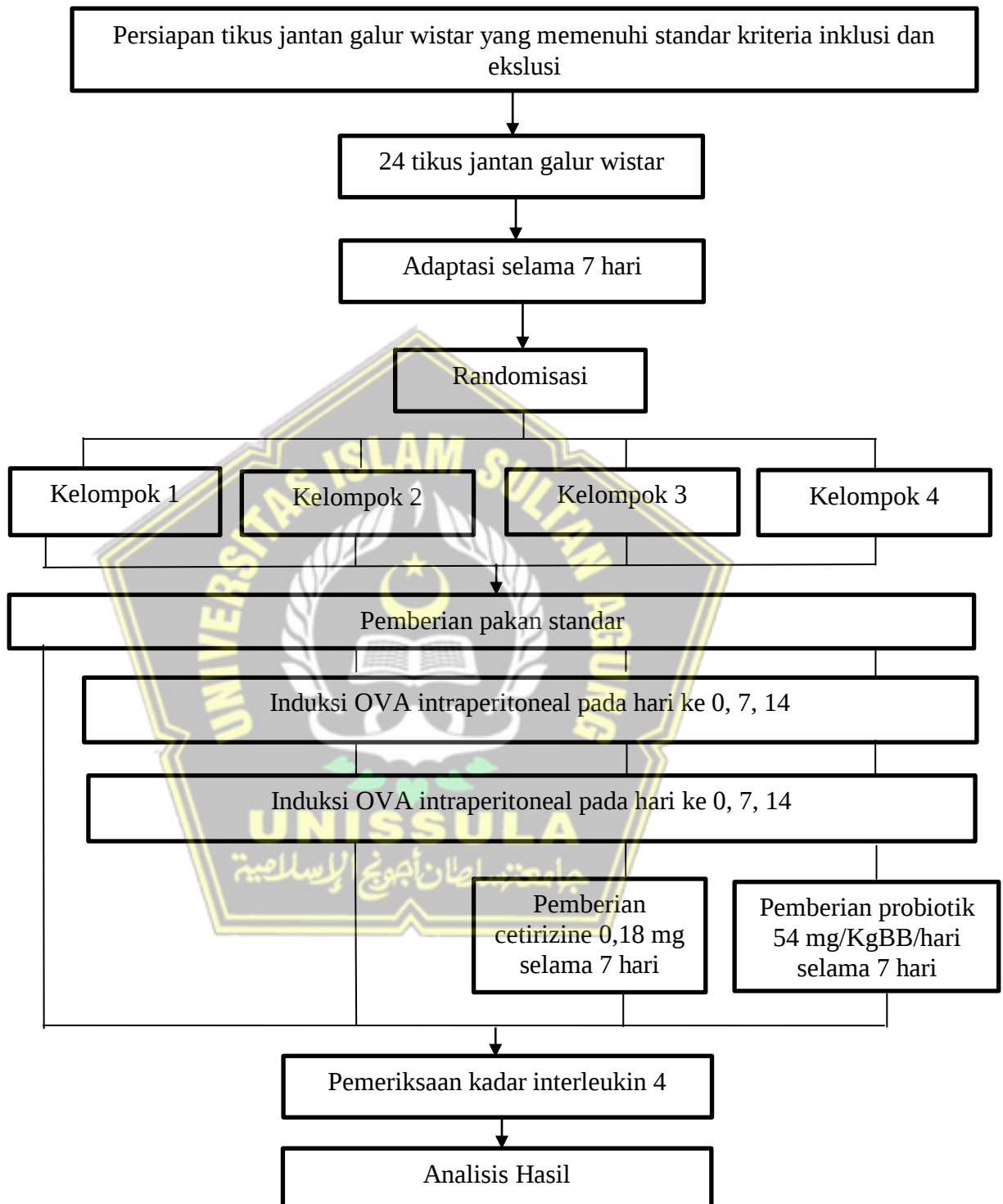
Penelitian dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi (PAU) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

3.6.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2023.



3.7. Alur Penelitian



Gambar 3.2. Alur Penelitian

3.8. Analisis Hasil

Hasil penelitian dianalisis menggunakan SPSS 26 dengan skala variable penelitian rasio sehingga akan dilakukan uji parametrik. Uji *Shapiro-Wilk* digunakan untuk menentukan distribusi normal dan *leuvene's Test* digunakan untuk homogenitas. Hasil uji *Shapiro-Wilk* ditemukan ($p>0,05$) yang artinya data yang didapatkan normal. Data pada penelitian di temukan normal tetapi tidak homogen sehingga dilakukan uji non parametrik dengan *Krustal-Wallis* untuk melihat apakah ada perbedaan yang bermakna pada kelompok perlakuan, kemudian dilakukan uji mann-whitney untuk melihat perbedaan signifikan di tiap kelompoknya.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi probiotik terhadap penurunan kadar interleukin 4 (IL4) pada tikus model rinitis alergi. Sampel tikus sebanyak 24 tikus dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing 6 tikus. K1 diberikan pakan standar, K2 diberikan diet pakan standar dan ovalbumin sebagai alergen, K3 diberikan pakan standar, ovalbumin dan cetirizine serta kelompok keempat diberikan pakan standard, ovalbumin dan probiotik. Hasil dari pemerian induksi ovalbumin terbukti menimbulkan rhinitis alergi, dilihat dari hidung tikus yang tampak kemerahan pada area yang gatal (pruritus hidung) seperti pada gambar 4.1



Gambar 4.1. Hidung Tikus Rinitis Alergi



Gambar 4.2. Rerata Kadar IL 4 Pada Tiap Kelompok

Kelompok 2 yang diinduksi ovalbumin terjadi reaksi hipersensitivitas tipe 1 karena memiliki rerata kadar interleukin 4 (IL4) yang paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya sebesar $148,85 \pm 2,13$ pg/ml. Kelompok 3 yang diberi cetirizine dan kelompok 4 yang diberikan probiotik menunjukkan rerata kadar interleukin 4 (IL4) yang lebih rendah dibandingkan kelompok 2 dan kelompok 1 didapatkan $74,88 \pm 0,84$ pg/ml yang tidak terjadi reaksi alergi. Dari data kadar interleukin 4 (IL4) yang sudah didapatkan dilakukan uji normalitas, uji homogenitas dan uji hipotesis.

Tabel 4.1. Hasil Uji Normalitas, Uji Homogenitas dan Uji Hipotesis

Kelompok	Uji Normalitas ^a	Uji Homogenitas ^b	p ^c
K1	0,414	0,010	0,000
K2	0,398		
K3	0,292		
K4	0,245		

Keterangan: Uji Shapiro Wilk (a), Levene Test (b), Uji Kruskall Wallis (c).

Hasil uji normalitas dan homogenitas disajikan pada tabel 4.1. Data kadar interleukin 4 (IL4) memiliki sebaran data yang normal di tiap kelompok ($p > 0,05$), kemudian dilakukan uji homogenitas dengan *Levene test* di temukan hasil data tidak homogen ($p < 0,05$) sehingga dilakukan transformasi minimal 2x terlebih dahulu agar data homogen, tetapi data masih didapatkan tidak homogen sehingga tidak dapat di analisis dengan uji parametrik. Analisis nonparametrik dengan *Kruskall Wallis* di lakukan untuk membuktikan adanya perbedaan yang bermakna secara keseluruhan pada data, signifikansi rerata kadar interleukin 4 (IL4) ditemukan hasil 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan bermakna antar kelompok.

Tabel 4.2. Hasil Uji Mann-Whitney

	K1	K2	K3	K4
K1		0,004*	0,004*	0,004*
K2	0,004*		0,004*	0,004*
K3	0,004*	0,004*		0,024*
K4	0,004*	0,004*	0,024*	

Keterangan= perbedaan secara signifikan ($p < 0,05$)

Uji *pos hoc* dengan uji *mann whitney* karena hasil uji *krustall wallis* menunjukkan hubungan yang signifikan. Uji *pos hoc* dilakukan untuk mengetahui suatu kelompok memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok lain.

Hasil dari uji *post hoc* didapatkan bahwa setiap kelompok memiliki perbedaan yang signifikan. Hal tersebut menambah penjelasan bahwa K1, K3 dan K4 yang secara deskriptif memiliki hasil yang hampir sama ternyata setelah dianalisis tetap memiliki perbedaan kadar interleukin 4 (IL4), hal ini

menunjukkan bahwa pemberian kombinasi probiotik berhasil menurunkan kadar interleukin 4 (IL4) pada tikus yang di paparkan ovalbumin atau tikus dengan rinitis alergi.

4.2. Pembahasan

Penelitian eksperimental mengenai pengaruh pemberian kombinasi probiotik terhadap penurunan kadar IL-4 pada tikus model rinitis alergi telah selesai dilaksanakan menggunakan metode *post-test only control group design* dengan menggunakan 24 ekor tikus tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang terbagi secara *random* dalam 4 kelompok dan tiap kelompoknya berjumlah 6 ekor. K1 sebagai kelompok yang tidak diberi perlakuan dan hanya diberikan pakan diet standar. K2 diberikan perlakuan dengan ovalbumin agar tikus menjadi rinitis alergi. K3 diberikan perlakuan ovalbumin dan pemberian cetirizine. K4 diberikan perlakuan ovalbumin agar tikus menjadi rinitis alergi dan dilakukan pemberian kombinasi probiotik.

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian untuk mencari dan mengidentifikasi kegunaan kombinasi probiotik sebagai terapi komplementer pada penyakit rinitis alergi. Penelitian ini mengidentifikasi manfaat kombinasi probiotik dalam memodulasi sistem imun khususnya pada ekspresi sitokin pro-inflamasi interleukin 4 (IL4) yang berada pada tikus model rinitis alergi.

Berdasarkan hasil analisis data, diketahui bahwa hasil kadar interleukin 4 pada K2 yang diberikan pakan standar dan ovalbumin sebagai

alergen pada penelitian ini mempunyai kadar interleukin 4 tertinggi dibandingkan kelompok lain. Ovalbumin merupakan protein yang memiliki kemampuan untuk memodulasi sistem imun sehingga dapat menginduksi dan meningkatkan interleukin 4 (IL4) (Toda *et al.*, 2016). Pemberian ovalbumin sejalan dengan penelitian yg di lakukan oleh Zenobia *et al* (2018), yang menyebutkan bahwa induksi ovalbumin akan berdampak terhadap peningkatan interleukin 4 (IL4) dan neutrofil akibat migrasi neutrofil yang dimediasi oleh interleukin 17 (IL17) pada tikus. Induksi ovalbumin secara intraperitoneal akan menyebabkan sensitisasi alergi sistemik akibat terjadinya pergeseran respon imun kearah Th2 dimana sel Th2 menghasilkan sitokin IL4, IL13, IL5, yang dapat menstimulasi sel B untuk memproduksi IgE spesifik dan paparan melalui inhalasi dapat menyebabkan inflamasi alergi di saluran pernafasan dengan stimulasi dari IL5 yang meningkatkan infiltrasi eosinophil sehingga terjadi respon alergi, eosinophil dapat di temukan di peribronkhial paru pada tikus melalui pengambilan inhalasi (Abbas *et al.*, 2015).

Kenaikan ekspresi interleukin 4 (IL4) pada K2 yang merupakan kelompok tikus yang diberi perlakuan ovalbumin juga memiliki alur yang sejalan dengan penelitian yg di lakukan oleh Li *et al.*,(2018) yang menyatakan bahwa tikus yang diberikan ovalbumin menunjukan ekspresi interleukin 4 (IL4) yang cukup signifikan dimana adanya kegagalan apoptosis sel-sel radang seperti eosinophil, makrofag dan limfosit merupakan salah satu faktor penyebab rinitis alergi.

Hasil kadar interleukin 4 (IL4) pada kelompok perlakuan K4 yang diberikan kombinasi probiotik dan ovalbumin memiliki nilai yang lebih rendah apabila dibandingkan dengan K2 dikarenakan pemberian kombinasi probiotik yang dapat menurunkan ekspresi interleukin 4 (IL4). Hal tersebut dikarenakan kombinasi probiotik mampu untuk menginduksi sitokin Th1, menghambat sitokin Th2, serta Th17 sehingga dapat menyebabkan penurunan ekspresi IL-4 (Galves *et al.*, 2014). Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Lee *et al.* (2013) yang menyebutkan bahwa pemberian kombinasi probiotik secara oral efektif sebagai imunomodulator pada tikus yang disensitasi oleh ovalbumin ditunjukkan dengan adanya penurunan kadar IgE spesifik, ovalbumin menghambat sitokin Th2 dan Th17 serta menginduksi produksi sitokin Th1. Probiotik juga berpotensi mampu mengurangi jumlah sitokin pro inflamasi dengan menghambat perlekatan dari lipopolisakarida di CD14 dan beberapa strain probiotik menjaga keseimbangan antar sel dengan meningkatkan sel Th1 dan menurunkan sel Th2 atau sebaliknya (Kusuma, 2017). Kombinasi probiotik *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis* memberikan efek menguntungkan dalam mengelola alergi karena sifat patogenitas dan tingkat resistensi antibiotik yang rendah (Ahmadi *et al.*, 2020). probiotik ternyata mempengaruhi perubahan sistem imun di saluran cerna dan sistemik, *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* yang merupakan koloni terbesar di saluran cerna mampu memodifikasi reaksi yang berhubungan dengan alergi dan inflamasi hal ini menyebabkan

kombinasi probiotik efektif menurunkan adanya alergi dalam tubuh (Kotake *S et al*, 2012).

Pada kelompok 3 yang diinduksi ovalbumin dan diberi cetirizine didapatkan hasil 93,45 pg/mL menunjukkan penurunan kadar interleukin 4 (IL4) dibanding dengan K2 sebagai kelompok yang diinduksi alergen. Cetirizine memiliki mekanisme kerja pada kontraksi otot polos yang biasa terjadi akibat reaksi alergi. Obat tersebut akan menghambat efek histamin yang timbul pada reaksi alergi sehingga memiliki efek vasodilator dengan cara mengaktifkan reseptor H1 yang menurunkan regulasi sitokin Th1 dengan mengubah keseimbangan IgE spesifik pada rhinitis alergi. Cetirizine diindikasikan untuk mengatasi reaksi alergi dengan dosis sekitar 5-10 mg/hari (Kawauchi *et al*, 2019).

Berdasarkan hasil analisis data lanjutan, terdapat perbedaan bermakna antar tiap kelompok penelitian. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian kombinasi probiotik dapat menurunkan ekspresi interleukin 4 (IL4) pada tikus model rinitis alergi akan tetapi pemberian kombinasi probiotik sebagai probiotik belum mampu menurunkan kadar interleukin 4 (IL4) menjadi normal seperti K1. Hal tersebut dikuatkan dengan nilai *mean* K1 yang lebih rendah apabila dibandingkan dengan kelompok perlakuan dengan pemberian kombinasi probiotik K4.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah tidak dilakukan penelitian tentang efek kombinasi probiotik terhadap sitokin lain, serta kombinasi probiotik yang diteliti belum menjelaskan keberhasilannya dalam

meringankan gejala rinitis alergi hanya dilihat dari penurunan kadar interleukin 4 (IL4).



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

- 5.1.1. Pemberian kombinasi probiotik berpengaruh terhadap penurunan kadar interleukin 4 (IL4) pada tikus model rinitis alergi.
- 5.1.2. Rerata kadar interleukin 4 pada tikus jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar adalah $74,88 \pm 0,84$ pg/mL.
- 5.1.3. Rerata kadar interleukin 4 pada tikus jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar dan diinduksi ovalbumin adalah $148,85 \pm 2,13$ pg/mL.
- 5.1.4. Rerata kadar interleukin 4 pada tikus jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar, diinduksi ovalbumin, dan diberi cetirizine 0,18 mg adalah $93,45 \pm 3,23$ pg/mL.
- 5.1.5. Rerata kadar interleukin 4 pada tikus jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar, diinduksi ovalbumin, dan diberi kombinasi probiotik dengan dosis 54 mg/KgBB adalah $87,73 \pm 2,96$ pg/mL.
- 5.1.6. Terdapat perbedaan rerata pada tiap-tiap kelompok penelitian.

5.2. Saran

Perlu dilakukan pengembangan lebih lanjut mengenai efek kombinasi probiotik terhadap sitokin lain yang terlibat dalam penyakit rinitis alergi, serta perlu dikembangkan lagi penelitian tentang kombinasi probiotik guna melihat kombinasi probiotik yang paling efektif dalam mengurangi gejala rinitis alergi.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtmann AH, Pillai S. Allergy. In: Cellular and molecular immunology. 8th ed. Elsevier Inc.: 2015. P. 417-340.
- Abong, J. M. *et al.* (2012) _Prevalence of allergic rhinitis in Filipino adults based on the National Nutrition and Health Survey 2008', *Asia Pacific Allergy*, 2(2),p.129.doi:10.5415/apallergy 2012.2.2.129.
- Ahmadi S, Wang S, Nagpal R, dkk. A human-origin probiotic cocktail ameliorates aging-related leaky gut and inflammation via modulating the microbiota/taurine/tight junction axis. *JCI Insight* 2020;5:1-18.
- Bjermer, L., Westman, M., Holmström, M., & Wickman, M. C. (2019). The complex pathophysiology of allergic rhinitis: scientific rationale for the development of an alternative treatment option. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 15(24)
- Chowdhury, A. H., Cámara, M., Verma, C., Eremin, O., Kulkarni, A. D., & Lobo, D. N. (2019). Modulation of t regulatory and dendritic cell phenotypes following ingestion of *Bifidobacterium longum*, AHCC® and azithromycin in healthy individuals. *Nutrients*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/nu11102470>.
- Dugoua, J.-J., Machado, M., Zhu, X., Chen, X., Koren, G., & Einarson, T. R. (2014). Probiotic safety in pregnancy: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, and *Saccharomyces* spp. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada : JOGC = Journal d'obstetrique et Gynecologie Du Canada : JOGC*, 31(6), 542–552.
- Drake, R. L., Vogl, A. W., & Mithcel, A. W. (2014). *Gray Dasar-dasar anatomi*.Elsevier (Singapore).
- Eslami, M., Bahar, A., Keikha, M., Karbalei, M., Kobylak, N., & Yousefi, B. (2020). Probiotics function and modulation of the immune system in allergic diseases. *Allergologia et Immunopathologia*, 771 - 788.
- Farmasi-Id com.* (2022, Maret 09). Dipetik April 2022, dari L-Bio: <https://www.farmasi-id.com/l-bio/>
- Fitria L., & Mulyati. 2014. Profil hematologi tikus *Rattus norvegicus*
- Gadani, S., C. Cronk, J., Norris, G. T., & Kipnis, J. (2019, November 1). Interleukin-4: A Cytokine to Remember. *J Immunol*, 9(189), 4213-4219.

- Gandhi, N. A., Pirozzi, G. and Graham, N. M. H. (2017) 'Commonality of the IL-4/IL-13 pathway in atopic diseases', *Expert Review of Clinical Immunology*, 13(5), pp.425–437. doi: 10.1080/1744666X.2017.1298
- Harsono, A. (2016). Rhinitis Alergika. In S. Soegijanto (Ed.), *Kumpulan Makalah Penyakit Tropis dan Infeksi di Indonesia Jilid 3* (hal. 1–2). Surabaya: Airlangga University Press\
- Ho, G. T., Porter, R. J., & Kalla, R. (2020). Ulcerative colitis: Recent advances in the understanding of disease pathogenesis. *F1000Research*, 9. <https://doi.org/10.12688/f1000research.20805.1>
- Ivory, K., Wilson, A. M., Sankaran, P., Westwood, M., McCarville, J., Brockwell, C., ... Nicoletti, C. (2013). Oral delivery of a probiotic induced changes at the nasal mucosa of seasonal allergic rhinitis subjects after local allergen challenge: A randomised clinical trial. *PLoS ONE*, 8(11).
- Jung , S., Hong, D., Bang, S.-J., Heo, K., Sim, J.-J., & Lee, J.-L. (2021, Maret). The Functional Properties of *Lactobacillus casei* HY2782 Are Affected by the Fermentation Time. *Applied Sciences*, 1-11.
- Kawauchi, H. *et al.* (2019) 'Antihistamines for allergic rhinitis treatment from the viewpoint of nonsedative properties', *International Journal of Molecular Sciences*, 20(1). doi: 10.3390/ijms20010213.
- Kim H, Kwack K, Kim DY, Ji GE. 2015. Oral probiotic bacterial administration suppressed allergic responses in an ovalbumin-induced allergy mouse model. *FEMS Immunol.Med. Microbiol.* 45:259-267.
- Kim, W. K., Han, D. H., Jang, Y. J., Park, S., Jang, S. J., Lee, G., Han, H. S., & Ko, G. (2021). Alleviation of DSS-induced colitis: Via *Lactococcus lactis* treatment in mice. *Food and Function*, 12(1), 340–350.
- Klimek L, Bachert C, Pfaar O, Becker S, Bieber T, Brehler R, *et al.* ARIA guideline 2019: treatment of allergic rhinitis in the German health system. *Allergologie select*, 2019;3:22-50.
- Koppe, T., Giotakis, E. and Heppt, W. (2012) 'Functional Anatomy of the Nose L nasus = nose', 1(October), pp. 135–145.
- Kotake S, Yago T, Kawamoto M, Nanke Y, Role of osteoclasts and interleukin 17 In the pathogenesis of rheumatoid arthritis . *J Bone Miner Metab.* 2012
- Lee, K. Il *et al.* (2020) 'Strain-specific differences in house dust mite (*Dermatophagoides farinae*)-induced mouse models of allergic rhinitis', *Clinical and Experimental Otorhinolaryngology*, 13(4), pp. 396–406.

- Liva, G. A., Karatzanis, A., & Prokopakis, E. P. (2021, July 19). Review of Rhinitis: Classification, Types, Pathophysiology. *Journal of Clinical Medicine*, 10, 3813.
- Markowiak, P., & Ślizińska, K. (2017, September 15). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrient*, 9(1021).
- Marsaux, B., Abbeele, P., Ghyselinck, J., Prioult, G., Marzorati, M., & Bogicevic, B. (2020). Synbiotic Effect of Bifidobacterium lactis CNCM I-3446 and Bovine Milk-Derived Oligosaccharides on Infant Gut Microbiota. *Nutrients*.
- Min, Y. G. (2010) 'The pathophysiology, diagnosis and treatment of allergic rhinitis', *Allergy, Asthma and Immunology Research*, 2(2), pp. 65–76. doi: 10.4168/air.2010.2.2.65.
- Moh'd Al-Rawashdeh, B., Sada Alhanjori, A., Ali, E., & Zihlif, M. (2020). Association of IL-4 Polymorphisms with Allergic Rhinitis in Jordanian Population. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 56(4), 1–9.
- Patel, R. G. (2017) 'Nasal Anatomy and Function', *Facial Plastic Surgery*, 33(1), pp. 3–8. doi: 10.1055/s-0036-1597950
- Purwaningsih, L. P. D., Pawarti, D. R. and Surarso, B. (2018) Efektivitas desloratadin terhadap skor gejala hidung total dan kadar interleukin-4 sekret hidung rinitis alergi', *Oto Rhino Laryngologica Indonesiana*, 48(1), p. 56. doi: 10.32637/orli.v48i1.256.
- Randall, K. L. and Hawkins, C. A. (2018) 'Antihistamines and allergy', *Australian Prescriber*, 41(2), pp. 42–45. doi: 0.18773/astpreser.2018.013
- Remes-Troche, J., Coss-Adame, E., & Valdovinos-Díaz, M. (2020, November24). *Lactobacillus acidophilus* LB: a useful pharmabiotic for the treatment of digestive disorders. *SAGE journals*.
- Rudy Agung Nugroho. (2018). *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium* (A.H. Khanz (ed.); Agustus 20). Mulawarman University Press.
- Scadding, G. K. (2015) 'Optimal management of allergic rhinitis', *Archives of Disease in Childhood*, 100(6), pp. 576–582. doi: 10.1136/archdischild-2014-306300.
- Small, P., Keith, P., & Harold, K. (2018). Allergic Rhinitis. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*(14), 51.
- S.Snell. (2014). Clinical Anatomy. In *Angewandte Chemie International*, 951–952.

- Silva-Filho, J., Caruso-Neves, C., & Pinheiro, A. (2014, March). IL-4: an important cytokine in determining the fate of T cells. *Biophysical Review*.
- Siah, K. T. H. (2020). *Acid inhibitors and allergy: comorbidity, causation and confusion*. *Nature Communications*, 813-815.
- Tajiri, T., Niimi, A., Matsumoto, H., Ito, I., Oguma, T., Otsuka, K., ... Mishima, M. (2014). Prevalence and clinical relevance of allergic rhinitis in patients with classic asthma and cough variant asthma. *Respiration*, 87(3), 211–218. <https://doi.org/10.1159/000355706>
- Upadrasta, A., & Madempudi, R. (2016, February 25). Probiotics and blood pressure: current insights. *integrated Blood Pressure Control*, 9, 33-42.
- Widyastuti, R. *et al.* (2020) 'Terapi Farmakologis Urtikaria Kronik Spontan Pharmacological Therapy of Chronic Spontaneous Urticaria', *Mdvi*, 47(6), pp. 51–57.
- Watts, A. M., West, N. P., Smith, P. K., Cripps, A. W., & Cox, A. J. (2016). Probiotics and allergic rhinitis: A simon two-stage design to determine effectiveness. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*.
- Yang, G., Liu, Z. Q., & Yang, P. C. (2013). Treatment of allergic rhinitis with probiotics: An alternative approach. *North American Journal of Medical Sciences*, 5(8), 465–468. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.117299>
- Zenobia, C. and Hajishengallis, G. (2016) 'inflammation', 69(1), pp. 142–159.
- Zein, U., & El Newi, E. (2019). *Buku Ajar Ilmu Kesehatan (Memahami Gejala, Tanda dan Mitos)*. Yogyakarta: Deepublish Publisher. Zuo, L., Yuan, K., Yu, L., Meng, Q., Chung, P. C., Yang, D.,
- Zuo, L., Meng, Q., & Chung, P. C. (2014). *Lactobacillus salivarius* mengatur respons subset sel T. 20(48), 18316–18329.