

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI PROBIOTIK TERHADAP
PENURUNAN KADAR BASOFIL PADA TIKUS MODEL**

RINITIS ALERGI

(Studi pada sediaan komersial yang mengandung *Lactobacillus acidophilus*,
Lactobacillus casei, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium lactis*,
Lactococcus lactis)

SKRIPSI

untuk memenuhi salah satu persyaratan
guna mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Disusun Oleh:

Nurlayli Hasanatun Fadilah

30101607712

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

2023

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI PROBIOTIK TERHADAP PENURUNAN
KADAR BASOFIL PADA TIKUS MODEL
RINITIS ALERGI**

(Studi pada sediaan komersial yang mengandung *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactococcus lactis*)

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nurlayli Hasanatun Fadilah

30101607712

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 3 Maret 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I,



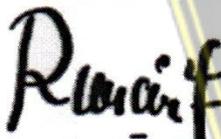
Dr. dr. Andriana Tjitria Widi Wardani
Sardjana, Sp.THT-BKL., M.Si.Med

Anggota Tim Penguji I



dr. Agung Sulistyanto, Sp.THT-BKL

Pembimbing II,



(Dr. Rita Kartika Sari, SKM., M. Kes.)

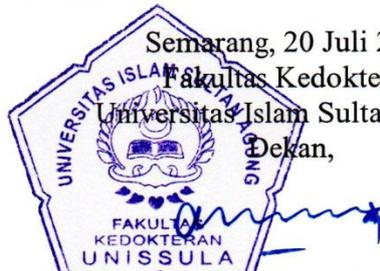
Anggota Tim Penguji II



Dr. Dra. Atina Rusnaana., M.Si., Apt

Semarang, 20 Juli 2023

Fakultas Kedokteran
Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,



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

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini saya:

Nama : Nurlayli Hasanatun Fadilah

NIM : 30101607712

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**“PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI PROBIOTIK TERHADAP
PENURUNAN KADAR BASOFIL 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, 27 Maret 2023
Yang menyatakan,



Nurlayli Hasanatun Fadilah

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 BASOFIL 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.

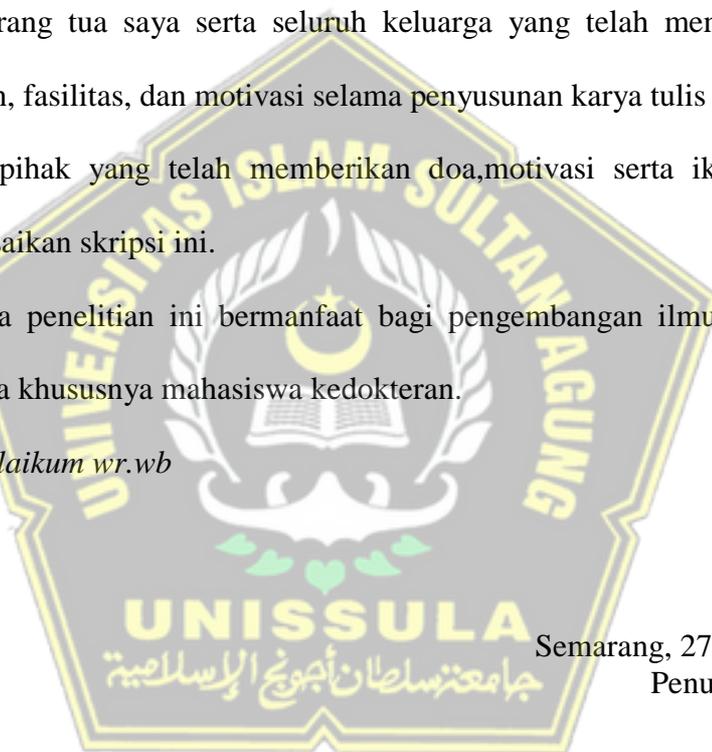
Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr. dr. Andriana Tjitria Widi Wardani Sardjana, Sp.THT-BKL., M.Si.Med selaku pembimbing I yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, ilmu, serta kesabarannya dalam memberikan bimbingan, nasihat, dan sasaran sehingga karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan.
3. Dr. Rita Kartika Sari, SKM., M.Kes selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, ilmu, serta kesabarannya dalam memberikan bimbingan, nasihat, dan sasaran sehingga karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan.

4. dr. Agung Sulistyanto, Sp.THT-BKL selaku dosen penguji I yang telah memberikan masukan, ilmu, arahan, dan saran serta kesabarannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini hingga akhir.
5. Dr. Dra Atina Husaana, Apt., M.Si selaku dosen penguji II yang telah memberikan masukan, ilmu, arahan, dan saran serta kesabarannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini hingga akhir.
6. Kedua orang tua saya serta seluruh keluarga yang telah memberikan doa, dukungan, fasilitas, dan motivasi selama penyusunan karya tulis ilmiah ini
7. Seluruh pihak yang telah memberikan doa, motivasi serta ikut membantu menyelesaikan skripsi ini.

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

Wassalamualaikum wr.wb



Semarang, 27 Maret 2023
Penulis,

Nurlayli Hasanatun Fadilah.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2. Manfaat Praktis.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Basofil.....	6
2.1.1. Perkembangan Basofil.....	7
2.1.2. Peran Basofil pada Rinitis Alergi.....	7
2.2. Probiotik.....	8
2.2.1. Tingkat Keamanan Probiotik.....	9
2.3. Antihistamin.....	17
2.4. Rinitis Alergi.....	18
2.4.1. Definisi.....	18
2.4.2. Etiopatofisiologi.....	18

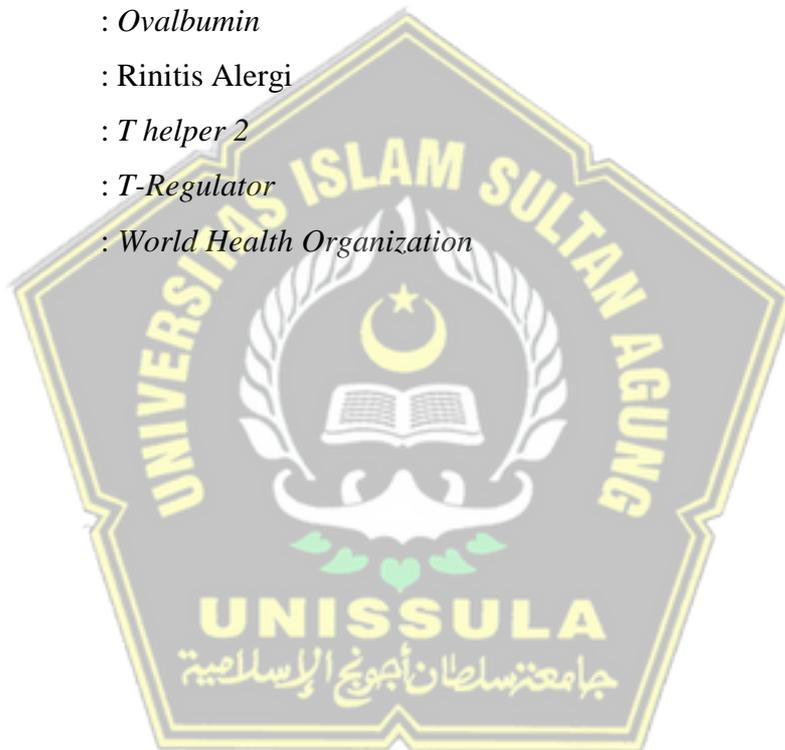
2.5.	Pemberian Probiotik terhadap kadar basofil pada penderita rhinitis alergi dilihat dari kadar basofil.....	20
2.6.	Kerangka Teori.....	22
2.7.	Kerangka Konsep.....	23
2.8.	Hipotesis.....	23
BAB III METODE PENELITIAN.....		24
3.1.	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	24
3.2.	Variabel dan Definisi Operasional.....	24
3.2.1.	Variabel.....	24
3.2.2.	Definisi Operasional.....	24
3.3.	Populasi dan Sampel Penelitian.....	25
3.3.1.	Populasi.....	25
3.3.2.	Sampel.....	25
3.3.3.	Besar Sampel.....	26
3.4.	Instrumen dan bahan penelitian.....	27
3.4.1.	Instrumen penelitian.....	27
3.4.2.	Bahan penelitian.....	28
3.5.	Cara penelitian.....	28
3.5.1.	Pengajuan Ethical Clearance.....	28
3.5.2.	Dosis probiotik.....	29
3.5.3.	Dosis Terapi Utama.....	29
3.5.4.	Persiapan Hewan Coba.....	29
3.5.5.	Pembuatan Hewan Model Rinitis Alergi.....	31
3.5.6.	Kelompok Perlakuan Hewan Coba.....	31
3.5.7.	Lama Perlakuan.....	32
3.5.8.	Pengukuran Variabel Penelitian.....	32
3.6.	Alur Penelitian.....	33
3.7.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	34
3.7.1.	Tempat Penelitian.....	34
3.7.2.	Waktu Penelitian.....	34
3.8.	Analisis Hasil.....	34

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1. Hasil Penelitian.....	35
4.2. Pembahasan	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
5.1. Kesimpulan.....	41
5.2. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....	45



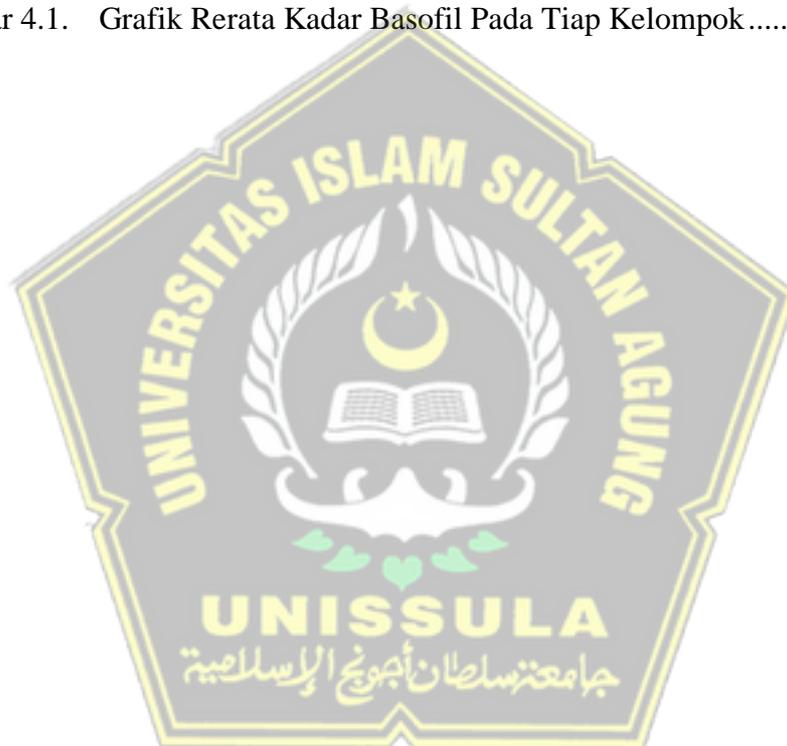
DAFTAR SINGKATAN

APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
FAO	: <i>Food and Agriculture Organization</i>
GOS	: <i>Galacto-Oligosaccharides</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
LPS	: <i>Liposakarida</i>
LTA	: <i>Lipoteichoic Acid</i>
OVA	: <i>Ovalbumin</i>
RA	: <i>Rinitis Alergi</i>
Th2	: <i>T helper 2</i>
Treg	: <i>T-Regulator</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Ilustrasi antibakteri <i>Lactobacillus Achidophilus</i>	12
Gambar 2.2.	Ilustrasi efek probiotik <i>Lactobacillus Casei</i>	14
Gambar 2.3.	Sensitisasi dan inflamasi yang diinduksi alergen	19
Gambar 2.4.	Kerangka Teori.....	22
Gambar 2.5.	Kerangka Konsep	23
Gambar 3.1.	Alur Penelitian.....	33
Gambar 4.1.	Grafik Rerata Kadar Basofil Pada Tiap Kelompok.....	35



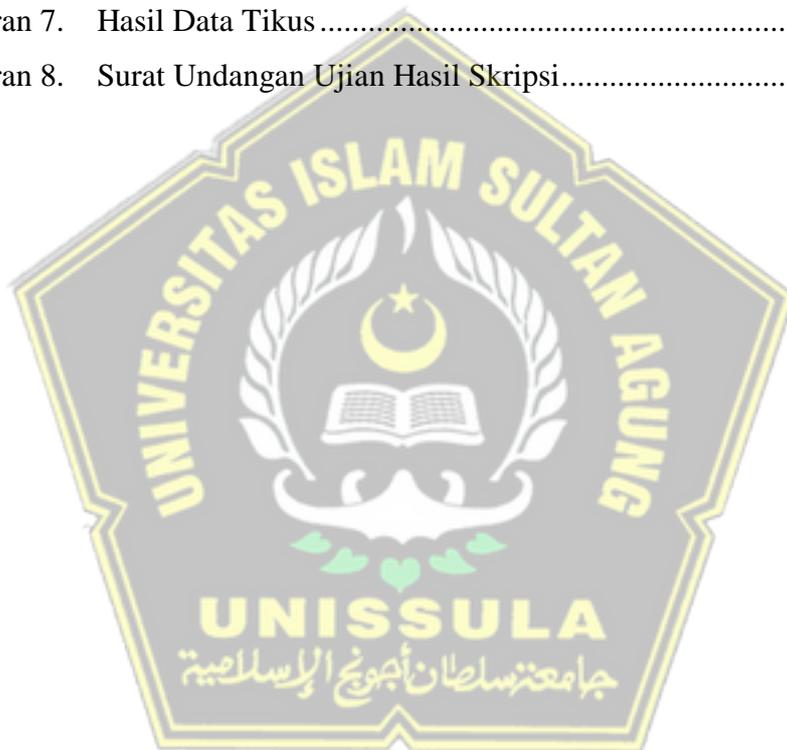
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Hasil Uji Normalitas, Uji Homogenitas dan Uji Hipotesis.....	36
Tabel 4.2.	Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i>	37



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil Uji Deskriptif	45
Lampiran 2.	Hasil Uji Normalitas Dan Homogenitas.....	47
Lampiran 3.	Hasil Uji Hipotesis Non-Parametrik <i>Kruskal-Wallis</i>	48
Lampiran 4.	<i>Ethical Clearence</i>	49
Lampiran 5.	Surat Ijin Penelitian	50
Lampiran 6.	Dokumentasi.....	51
Lampiran 7.	Hasil Data Tikus	54
Lampiran 8.	Surat Undangan Ujian Hasil Skripsi.....	55



INTISARI

Rinitis Alergi merupakan hipersensitivitas klinis pada mukosa hidung terhadap paparan alergen yang dimediasi oleh antibodi *Imunoglobulin E* (IgE), gejala pada Rinitis Alergi yakni hidung tersumbat, rinore jernih, bersin-bersin, postnasal drip, dan pruritis hidung. Penyakit ini adalah respons imun yang dimediasi IgE yang melawan antigen yang dihirup pada fase langsung, dengan fase akhir yang dimediasi leukotrien berikutnya. Sampai ini, penelitian pengaruh pemberian kombinasi probiotik terhadap penurunan kada basofil masih terbatas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi probiotik sebagai terapi tambahan untuk mengurangi gejala rinitis pada hewan coba tikus jantan galur Wistar yang diinduksi ovalbumin.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *post test only control grup design* menggunakan tikus jantan galur wistar dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dengan jumlah 24 tikus yang dibagi secara random ke K1 (kelompok normal), K2 (kontrol negatif), K3 (kontrol positif dengan cetirizine 0,18 mg/grBB), K4 (kelompok perlakuan dengan probiotik 54mg/grBB). Sample darah diambil melalui vena *ophthalmica* selanjutnya kadar Basofil diukur menggunakan *hematology analyzer*.

Hasil penelitian ini didapatkan ada perbedaan bermakna antar kelompok yang hanya diinduksi ovalbumin dan kelompok yang telah diberi terapi kombinasi probiotik. Hasil uji analisis dengan *Kruskall Wallis* didapatkan hasil $p=0,000$ dan uji *Mann Whitney* $p=0,003$

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian kombinasi probiotik terhadap penurunan kadar basofil pada tikus yang diinduksi ovalbumin sehingga berpotensi sebagai terapi tambahan untuk mengurangi gejala rinitis alergi.

Kata kunci: Probiotik, Rinitis Alergi, Ovalbumin, Basofil

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Rinitis Alergi (RA) secara klinis didefinisikan sebagai gejala-gejala hipersensitivitas pada hidung yang diinduksi oleh peradangan. Gejala pada Rinitis Alergi yakni hidung tersumbat, rinore jernih, bersin-bersin, postnasal drip, dan pruritis hidung (Tanaka & Amaliah, 2020). Rinitis alergi merupakan masalah kesehatan global yang dapat berdampak pada kualitas hidup dan seringkali berhubungan dengan multiple co-morbidity, RA meskipun tidak termasuk dalam penyakit berat, namun dapat berdampak pada kehidupan sosial, penurunan kinerja sekolah, serta kualitas hidup (Min, 2010). Tatalaksana yang dapat dilakukan untuk RA adalah menghindari alergen, farmakoterapi, dan imunoterapi, namun tidak semua orang bisa menerapkan hal tersebut. Pemberian salah satu terapi obat anti histamin menjadi pilihan yang praktis untuk mneurangi gejala rintitis alergi, akan tetapi pada obat anti histamin memiliki efek samping sedatif yang dapat mempengaruhi kualitas hidup penderita seperti penurunan pada aktivitas sosial dan gangguan psikologis (Miura Susanto & Brenda Makagiansar, 2022).

Untuk terapi farmakologis berupa pemberian antihistamin, pemberian antihistamin memiliki efek samping yang akan mengganggu aktivitas sehari-hari, antihistamin apabila diberikan dalam dosis yang berlebih memiliki adverse effect yaitu ruam kulit, sulit tidur, dan lelah berlebih (Randall &

Hawkins, 2018). Prevalensi RA berdasarkan diagnosis dokter adalah sekitar 15%; namun, prevalensi diperkirakan setinggi 30% berdasarkan pasien dengan gejala hidung tersumbat, rinore jernih, bersin-bersin, postnasal drip, dan pruritis hidung. Rinitis Alergi diketahui mencapai puncaknya pada dekade kedua hingga keempat kehidupan dan kemudian secara bertahap menurun. Insiden RA pada populasi pediatrik juga cukup tinggi, menjadikannya salah satu gangguan pediatrik kronis yang paling umum. Menurut data dari Studi Internasional untuk Asma dan Alergi pada Anak, 14,6% pada kelompok usia 13 hingga 14 tahun dan 8,5% pada kelompok usia 6 hingga 7 tahun menunjukkan gejala rinokonjungtivitis yang terkait dengan RA. Rinitis alergi musiman tampaknya lebih sering terjadi pada kelompok usia anak, sedangkan Rinitis kronis lebih sering terjadi pada orang dewasa (Akhouri & House, 2021).

Probiotik berarti 'untuk kehidupan' dan didefinisikan oleh World Health Organization (WHO) dan Food and Agriculture Organization (FAO) Perserikatan Bangsa-Bangsa sebagai 'mikroorganisme hidup yang, bila diberikan dalam jumlah yang memadai sebagai bagian dari makanan, memberikan kesehatan yang bermanfaat, berefek dengan memproduksi mikroflora usus pada inangnya. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang membantu keadaan normal usus, dan jika diberikan dengan benar, mikroorganisme tersebut dapat merangsang sistem kekebalan mukosa untuk mencegah gejala inflamasi alergi dan atopi. Rinitis alergi musiman lebih

sering terjadi pada kelompok usia anak, sedangkan Rinitis kronis lebih sering terjadi pada orang dewasa (Akhouri & House, 2021).

Respon imun di usus dapat memodulasi respon imun di organ target yang jauh, termasuk hidung. Probiotik mencegah infiltrasi eosinofil yang diinduksi serbuk sari ke dalam mukosa hidung, dan memodulasi respons imun Th2 pada Rinitis alergi (Kim, *et al.*, 2013). Meskipun populasi granulosit paling jarang dalam tubuh mamalia, akumulasi basofil telah dilaporkan di sejumlah penyakit manusia termasuk penyakit alergi, penolakan organ, autoimunitas dan kanker. Basofil memainkan peran penting dalam inflamasi alergi pada IgE-dependen dan independen, melalui migrasinya ke tempat inflamasi dan sekresi berbagai mediator, termasuk sitokin, kemokin, dan protease (Miyake & Karasuyama, 2017). Terdapat korelasi kuat antara masuknya basofil selama reaksi fase akhir dan peningkatan akhir histamin yang bersamaan. Sel mast adalah sumber histamin selama reaksi awal sedangkan basofil adalah sumber selama reaksi akhir (Naclerio, *et al.*, 1994). Probiotik mengubah profil sitokin melalui efek pada sel dendritik sehingga meningkatkan produksi IgA dan IgG4 sekretorik oleh sel B dan pengurangan IgE spesifik alergen oleh sel B.

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, peneliti tertarik mengkaji mengenai terapi kombinasi probiotik untuk menurunkan kadar Basofil.

1.2. Rumusan Masalah

Dari latar belakang dapat dirumuskan masalah sebagai berikut
“apakah ada pengaruh pemberian kombinasi probiotik terhadap penurunan kadar basofil pada tikus model Rinitis alergi?”

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi probiotik (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus Salivarius*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactococcus lactis*) terhadap penurunan kadar basofil pada tikus model Rinitis alergi.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Mengetahui rerata kadar Basofil pada tikus jantan galur Wistar yang mendapat diet pakan standart.

1.3.2.2. Mengetahui rerata kadar Basofil pada tikus jantan galur Wistar yang mendapat diet pakan standart dan diinduksi oleh Ovalbumin.

1.3.2.3. Mengetahui rerata kadar Basofil 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 Basofil pada tikus jantan galur Wistar yang mendapat diet pakan standart dan diinduksi

oleh Ovalbumin, dan diberi kombinasi probiotik dengan dosis 54 mg/gBB.

1.3.2.5. Mengetahui perbedaan rerata kadar Basofil pada setiap perlakuan pada penelitian.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Memberikan informasi pengembangan ilmu mengenai pengaruh probiotik terhadap Rinitis Alergi.

1.4.2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada dokter spesialis THT mengenai pengaruh kombinasi probiotik terhadap Rinitis Alergi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Basofil

Granulosit basofilik (biasanya disebut sebagai basofil) adalah populasi kecil leukosit darah tepi yang mengandung butiran sitoplasma (Falcone, *et al.*, 2013). Basofil menyumbang kurang dari 170 leukosit darah, yang menunjukkan regulasi basopoiesis yang terkontrol ketat. Basofil ditemukan dalam spektrum yang luas dari sampel hewan, yang menunjukkan peran yang tidak berlebihan dalam imunitas bawaan dan adaptif. Namun, peran fisiologis basofil masih belum diketahui. Basofil dicirikan oleh ekspresi permukaan reseptor afinitas tinggi untuk igE (FcεRI) dan dengan pelepasan mediator inflamasi seperti histamin dan sisteinil leukotrien (Marone, *et al.*, 2014). Basofil berasal dari sel induk hematopoietik yang terbentuk di bawah pengaruh berbagai sitokin, terutama interleukin-3 (IL-3). Granul basofil mengandung beberapa senyawa antara lain histamin, platelet-activating factor, leukotriene C₄, IL-4, IL-13, vascular endothelial growth factor A (VEGF A), VEGF B, dan chondroitin sulfates (heparan). Basofil juga mampu mensintesis protein granula berdasarkan sinyal aktivasi yang disediakan oleh sel lain. Misalnya, basofil dapat diinduksi untuk menghasilkan neurotransmitter peradangan alergi, granzyme B. Sel mast dapat menginduksi basofil untuk memproduksi dan melepaskan asam retinoat, pengatur imunitas seluler yang terjadi pada penyakit alergi. Basofil

juga berperan dalam angiogenesis melalui ekspresi VEGF dan reseptornya (Rodak, *et al.*, 2016).

2.1.1. Perkembangan Basofil

Basofil, serta sel mast, monosit, eosinofil, dan neutrofil, diperkirakan berasal dari progenitor CD341 yang ditemukan di tali pusat, darah tepi, dan sumsum tulang. Basofil, khususnya, telah diyakini berevolusi dari CD341/IL-3Ra1/IL-51 eosinofil, sebagaimana didukung oleh terjadinya granulosit dengan fenotipe eosinofil / basofil hibrida pada pasien dengan penyakit kronis atau leukemia myelogenous akut atau dalam kultur sel. Berbagai protokol menggunakan kombinasi sitokin dan faktor pertumbuhan telah dijelaskan untuk budidaya *in vitro* dari basofil dari darah atau sumsum tulang, melihat ditemukan adanya IL-3 eksogen menjadi prasyarat umum untuk keberhasilan perkembangan dan pematangan basofil (Falcone, *et al.*, 2013)

2.1.2. Peran Basofil pada Rinitis Alergi

Basofil mungkin memiliki peran selain generasi histamin selama respon fase late, dan di antaranya bisa menjadi pelepasan sitokin proinflamasi. Eksperimen *in vitro* baru-baru ini dengan basofil darah tepi telah menunjukkan bahwa sel-sel ini mampu memproduksi interleukin (IL)-4 sebagai respons terhadap stimulus yang diperantarai IgE seperti anti-IgE. Pentingnya pengamatan ini terbukti karena IL-4 adalah faktor pertumbuhan sel mast dan juga

mendorong peralihan sel B ke produksi IgE. Selain menghubungkan basofil dengan pelepasan histamin selama reaksi lambat, penelitian tersebut juga dilakukan pada keadaan hipersensitivitas. Dalam studi tentang priming hidung (didefinisikan sebagai peningkatan reaktivitas terhadap antigen setelah stimulasi antigen sebelumnya) ditemukan bahwa jumlah basofil meningkat pada hari-hari ketika priming terjadi. Studi ini menunjukkan bahwa histamin yang diperoleh selama respons challenge tidak hanya berasal dari degranulasi akut sel mast tetapi juga dari basofil yang telah direkrut selama reaksi late fase. Menariknya peningkatan histamin pada tantangan ulang dengan antigen ini berkurang dengan pengobatan dengan steroid sistemik. Jumlah basofil juga meningkat ketika hidung menjadi hipersensitiv terhadap histamin, contoh peningkatan reaktivitas nonspesifik (Naclerio, *et al.*, 1994).

2.2. Probiotik

Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang memberikan manfaat kesehatan pada inang bila diberikan dalam jumlah yang memadai. Sejarah penggunaan probiotik dengan akses yang luas mencerminkan tingkat keamanannya yang tinggi. Umumnya, bakteri probiotik perlu memiliki seperangkat kriteria untuk menginduksi efek yang menguntungkan, termasuk: (1) resistensi terhadap PH, empedu dan enzim pencernaan; (2) mencegah pengikatan patogen dan antigen oral ke sel epitel; (3) meningkatkan kemungkinan khasiat biologis pada manusia; (4)

efek langsung terhadap toksisitas bakteri, virus, jamur dan parasit; dan (5) toleransi yang tepat dan kepentingannya dalam penggunaan klinis untuk keamanannya. Tubuh manusia dijajah (terutama saluran pencernaan) oleh 10-100 triliun mikroba, termasuk bakteri, archaea, virus, dan mikroba eukariotik. Mikrobiota usus asli dikenal sebagai kontributor utama dalam mempertahankan fisiologi biasa, homeostasis imun, dan produksi energi selama hidup. Produk protein dan metabolit mikroba ini memainkan peran penting dalam pengembangan dan homeostasis sejumlah fungsi tubuh. Komunikasi antara mikroorganisme ini dan inang telah berkembang di seluruh evolusi mamalia, menghasilkan komunitas mikroba gastrointestinal yang khas pada manusia. Komunitas mikroba tetap stabil dari waktu ke waktu, terlebih lagi, makanan dan faktor lingkungan lainnya dapat memengaruhi komunitas mikroba (Eslami, *et al.*, 2020)

2.2.1. Tingkat Keamanan Probiotik

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang dianggap aman karena sejarah penggunaannya yang panjang dalam makanan dan produk susu selama lebih dari seratus tahun. Probiotik umum adalah *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*, beberapa strain *Enterococcus* dan umumnya spesies *Saccharomyces*. Karena probiotik telah terbukti mempengaruhi sistem imun bawaan dan adaptif, kekhawatiran teoretis tentang potensi probiotik untuk merangsang respon imun pada beberapa individu, mungkin yang mengarah ke autoimun atau peradangan belum dilaporkan pada subjek manusia

mana pun Usus bertindak sebagai penghalang yang sangat cerdas dan organ komunikasi antara lingkungan bakteri luminal dan inang. Oleh karena itu, kegagalan komunikasi ini karena hilangnya fungsi penghalang atau kegagalan mekanisme toleransi telah dikaitkan dengan penyakit, biasanya sebagai infeksi oportunistik pada beberapa pasien predisposisi dan perkembangan peradangan. Selain itu, keberadaan gen resistensi antibiotik yang dapat ditransfer, yang terdiri dari risiko teoretis transfer ke mikroba usus yang tidak terlalu berbahaya, juga harus dipertimbangkan. Oleh karena itu, keamanan probiotik terkait dengan sifat mikroba spesifik yang diusulkan penggunaan, dosis, dan durasi. Secara keseluruhan, probiotik bila diberikan dalam jumlah yang memadai merupakan manfaat kesehatan pada inangnya. *Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ)* dalam mendukung *National Institutes of Health* dan *FDA* merilis laporan yang menganalisis 622 studi dan uji klinis yang menggunakan organisme dari enam spesies (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, dan *Bacillus*) dan mengungkapkan tidak ada bukti peningkatan risiko dalam penelitian tersebut (Eslami, *et al.*, 2020).

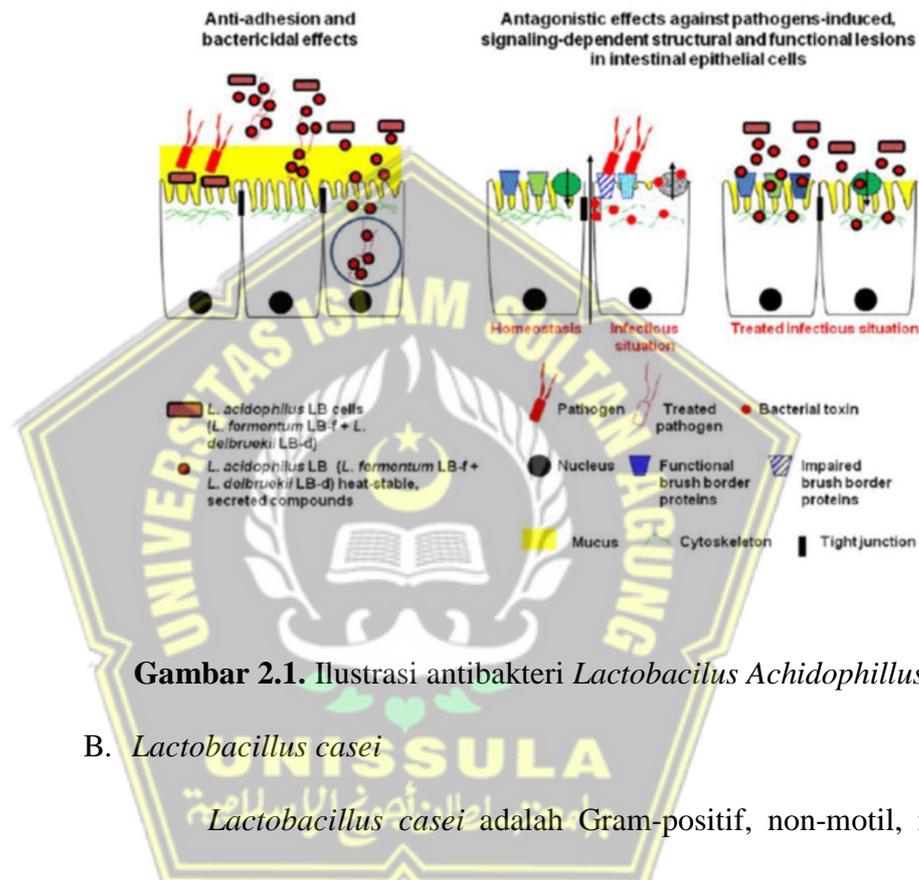
A. *Lactobacillus acidophilus*

L. acidophilus, awalnya bernama *Bacillus acidophilus*, awalnya diisolasi dari saluran pencernaan manusia (tinja bayi) pada tahun 1900 oleh Moro. *L. acidophilus* adalah basil pendek

(2–10 µm), Gram-positif yang tumbuh optimal dari 37 hingga 42°C dan dapat berkembang pada suhu setinggi 45°C. Ia mencapai pertumbuhan tertinggi dengan pH antara 5,5 dan 6,0, dan pertumbuhannya berhenti pada pH 4,0. *L. acidophilus* adalah organisme homofermentatif obligat yang memfermentasi karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat, dan merupakan salah satu lactobacillus yang paling tidak toleran terhadap oksigen. Studi menunjukkan bahwa konsumsi makanan adalah faktor utama dalam memperoleh pembawa *L. acidophilus* manusia. *L. acidophilus* LB memiliki peran pada aktivitas antibakterinya terutama pada mekanisme di bawah ini:

- Memiliki aktivitas yang mirip dengan antibiotik. Molekul yang disekresikan dalam kultur *L. acidophilus* LB mengerahkan aktivitas pembunuh yang bergantung waktu terhadap bakteri enterovirulen utama (*Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *E. coli* enteropatogenik, dan *H. pylori*), terlokalisasi secara luminal dan bakteri patogen menempel pada brush border atau terinternalisasi dalam sel epitel usus terpolarisasi.
- Memiliki aktivitas bakterisida intravakuolar dan bakteriostatik. Menunjukkan efek terhadap *S. typhimurium*.
- Memiliki sifat perekat dan sitoprotektif.

Pembuatan biofilm yang melindungi enterosit terhadap *E. coli* yang melekat secara difus yang terkait dengan diare, *E. coli* enterovirulen, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes*, dan *Yersinia pseudotuberculosis* (Remes-Troche, *et al.*, 2020).

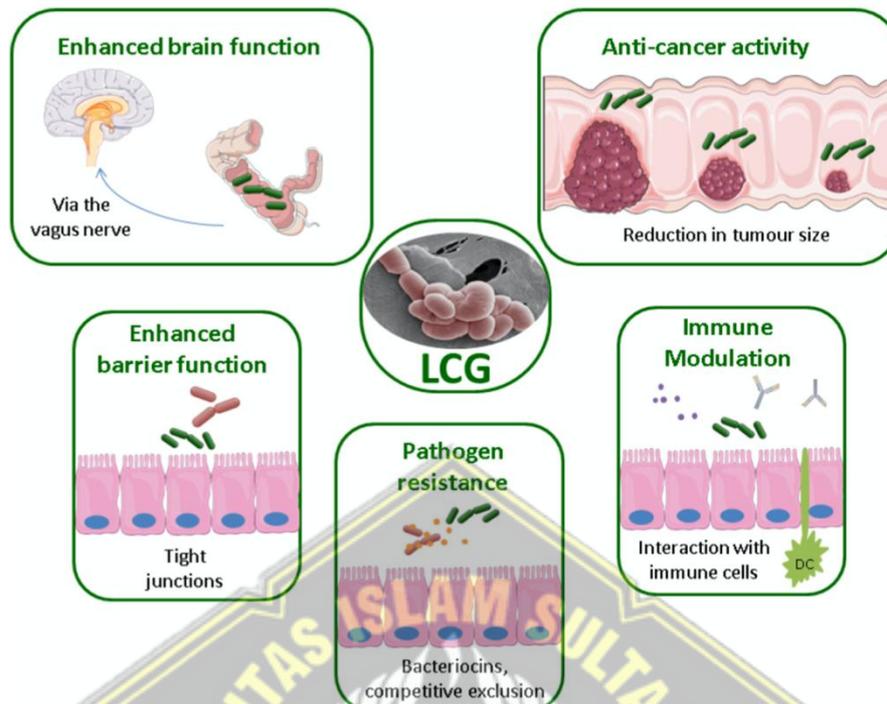


Gambar 2.1. Ilustrasi antibakteri *Lactobacillus Achidophilus*

B. *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei adalah Gram-positif, non-motil, non-sporulasi dan bakteri katalase-negatif. Sel adalah batang berukuran $0,7-1,1 \times 2,0-4,0$ m, seringkali dengan ujung persegi, yang cenderung membentuk rantai. Kelompok *Lactobacillus casei* (LCG), terdiri dari *Lactobacillus casei* yang terkait erat, *Lactobacillus paracasei*, dan *Lactobacillus rhamnosus* adalah beberapa spesies probiotik lactobacillus yang paling banyak diteliti dan diterapkan. (Hill, *et al.*, 2018). Ketiga spesies tersebut

telah dipelajari secara ekstensif, diklasifikasikan dan direklasifikasi karena sifat mempromosikan kesehatan mereka. *L.casei* ditemukan dalam berbagai sayuran dan buah-buahan dan makanan fermentasi. *L. casei* telah dipelajari secara ekstensif sebagai kultur starter fermentasi dan sebagai probiotik. Secara khusus, *L. casei* secara umum dikenal sebagai organisme yang aman. Agar berguna sebagai strain probiotik, ia dapat menempel pada mukosa usus dan mampu menjajah usus. Dengan demikian, kemampuan organisme probiotik untuk menempel pada mukosa gastrointestinal inang adalah salah satu 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)



Gambar 2.2. Ilustrasi efek probiotik *Lactobacillus Casei*

C. *Lactobacillus salivarius*

Lactobacillus salivarius adalah bagian dari mikrobiota asli saluran pencernaan (GIT) dan rongga mulut manusia dan hamster. *Lactobacillus salivarius* menjadi salah satu probiotik yang menjanjikan yang umumnya diisolasi dari saluran pencernaan manusia, babi, dan unggas (GIT), banyak di antaranya adalah produsen bakteriosin sub-kelas IIa, IIb dan IIc yang tidak dimodifikasi. Bakteriosin dapat memfasilitasi pengenalan produsen, secara langsung menghambat invasi strain atau patogen yang bersaing, atau memodulasi komposisi mikrobiota dan mempengaruhi sistem kekebalan inangnya (Raftis, *et al.*, 2011).

D. *Bifidobacterium lactis*

Lactis ditunjukkan sebagai batang negatif katalase Gram-positif, asporogen, dengan morfologi ireguler dan dikonfirmasi sebagai anggota genus *Bifidobacterium* dengan adanya aktivitas fruktosa-6-fosfat fosfoketolase. Spesifikasi dari *B. lactis* HN019 ditentukan berdasarkan pola fermentasi karbohidrat dan reaksi primer spesifik spesies. Pola fermentasi karbohidrat menunjukkan spesies "lactis" tetapi tidak sepenuhnya konsisten dengan strain referensi *B. lactis*. HN019 membentuk asam dari glukosa, laktosa, rafinosa, dan ribosa, sedangkan jenis strain juga positif untuk pati, xilosa, dan arabanosa. (Sanders, 2006). *B. 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. Faktanya, *B. lactis* diduga tidak dapat menggunakan sumber karbon yang ada di usus manusia, karena memiliki sejumlah hipotetis glikosil hidrolase dan jalur karbohidrat. Namun, beberapa strain *B. lactis* telah terbukti mampu memetabolisme struktur Galacto-OligoSaccharides (GOS). (Marsaux, *et al.*, 2020)

E. *Lactococcus lactis*

Lactococcus lactis telah digunakan selama berabad-abad dalam fermentasi makanan terutama keju, yoghurt, sau-erkraut dan sejenisnya, sehingga secara umum dianggap aman. tentang 2600 bakteri asam laktat yang berasal dari 202 sampel dari berbagai sumber, seperti susu mentah, produk susu, rumput mentah dan sayuran fermentasi menjadi sasaran skrining untuk *L. lactis*. Strain ini diisolasi secara anaerobik dengan metode kultur pelat biasa menggunakan pelat agar MRS pada suhu 30°C atau 37°C. Strain J50, J52 dan J54, yang sebelumnya telah diidentifikasi sebagai *L. lactis* subsp. *cremoris*, dimasukkan dalam skrining. Setiap isolat diselidiki dengan PCR spesifik *L. lactis* yang ditargetkan *gadB* dan pencernaan endonuklease restriksi berikutnya seperti yang dijelaskan sebelumnya. tentang 2600 bakteri asam laktat yang berasal dari 202 sampel dari berbagai sumber, seperti susu mentah, produk susu, rumput mentah dan sayuran fermentasi menjadi sasaran skrining untuk *L. lactis*. Strain ini diisolasi secara anaerobik dengan metode kultur pelat biasa menggunakan pelat agar MRS pada suhu 30°C atau 37°C. Strain J50, J52 dan J54, yang sebelumnya telah diidentifikasi sebagai *L. lactis* subsp. *cremoris*, dimasukkan dalam skrining. Setiap isolat diselidiki dengan PCR spesifik *L.*

lactis yang ditargetkan gadB dan pencernaan endonuklease restriksi berikutnya. (Nomura, *et al.*, 2006)

2.3. Antihistamin

Antihistamin adalah contoh obat yang digunakan untuk mengobati alergi dan hipersensitivitas. Sekresi histamin sendiri dapat menyebabkan rasa gatal yang berlebih. Histamin memiliki empat jenis reseptor yaitu, reseptor H1, H2, H3, dan H4, yang merupakan reseptor berpasangan protein G (GPCRs). Reseptor H1 sering dikaitkan dengan efek penargetan antihistamin. Ada dua generasi di kelas antihistamin, generasi pertama obat ini mampu melewati dari sawar darah otak yang akan menyebabkan efek sedasi, generasi kedua cenderung tidak bisa melewati dari sawar darah otak dan memiliki efek sedasi yang kecil, tetapi antihistamin generasi pertama dan generasi kedua masih memiliki efek samping obat seperti pusing dan mulut kering. (Kawauchi *et al.*, 2019)

Cetirizine adalah antihistamin generasi kedua yang bekerja lebih cepat dan lebih kuat. Cetirizine digunakan untuk meredakan gejala kondisi alergi seperti asma, dermatitis atopik, dan Rinitis dengan meningkatkan reseptor H1 secara reversibel dan kemudian mempertahankannya dalam bentuk yang tidak aktif. Pemberian cetirizine 10mg dalam dosis tunggal atau ganda dapat menekan sekresi histamin pada pasien alergi atau non-alergi dan umumnya lebih efektif dibandingkan dengan histamin lainnya. Cetirizine oral dimetabolisme di hati dan diserap di usus serta konsentrasi plasma maksimal akan di capai dalam waktu 1-2 jam. Sekitar 70% dari dosis oral

akan diskresikan dalam urin dan sekitar 10% dalam feses.(Corsico *et al.*, 2019).

2.4. Rinitis Alergi

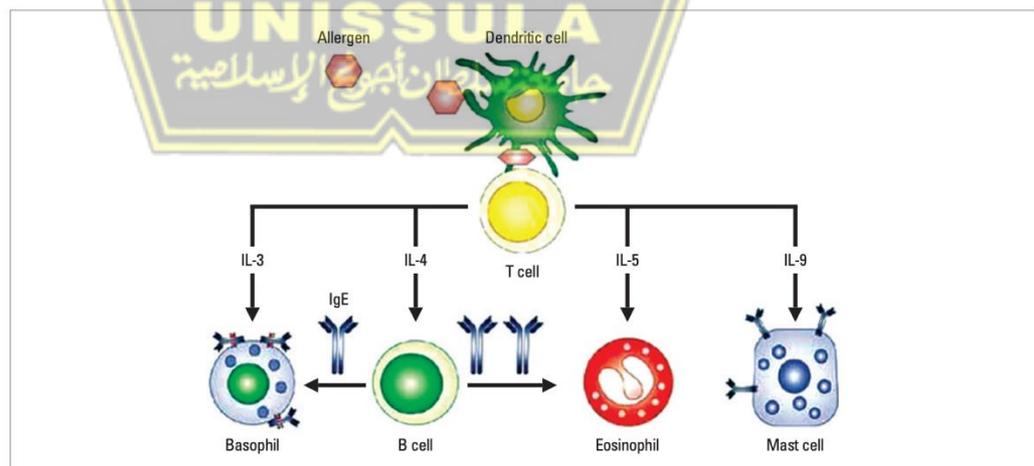
2.4.1. Definisi

Rinitis alergi (RA) adalah penyakit atopik dengan gejala bersin-bersin, hidung tersumbat, rhinorrhea jernih, dan pruritis hidung. Penyakit ini adalah respons imun yang dimediasi IgE yang melawan antigen yang dihirup pada fase langsung, dengan fase akhir yang dimediasi leukotrien berikutnya (Akhouri & House, 2021). Di masa lalu, Rinitis alergi dianggap sebagai kelainan yang terlokalisasi pada hidung dan saluran hidung, tetapi bukti saat ini menunjukkan bahwa penyakit ini merupakan komponen penyakit saluran napas sistemik yang melibatkan seluruh saluran pernapasan. Terdapat sejumlah hubungan fisiologis, fungsional dan imunologis antara bagian atas (hidung, rongga hidung, sinus paranasal, tuba Eustachius, faring dan laring) dan saluran pernapasan bawah (trakea, saluran bronkial, bronkiolus dan paru-paru) (Small, *et al.*, 2018).

2.4.2. Etiopatofisiologi

Pada Rinitis alergi, banyak sel inflamasi, termasuk sel mast, sel T CD4-positif, sel B, makrofag, dan eosinofil, menyusup ke lapisan hidung saat terpapar alergen pemicu (paling sering partikel kotoran seperti tungau, debu di udara, residu kecoa, bulu binatang

kapang, dan serbuk sari). Pada individu yang alergi, sel T yang menginfiltrasi mukosa hidung sebagian besar bersifat T helper 2 (Th2) dan melepaskan sitokin (misalnya interleukin [IL]-3, IL-4, IL-5, dan IL-13) yang meningkatkan imunoglobulin. Produksi E (IgE) oleh sel plasma. Crosslinking IgE yang terikat pada sel mast oleh alergen, pada gilirannya, memicu pelepasan mediator, seperti histamin dan leukotrien, yang bertanggung jawab untuk dilatasi arteriol, peningkatan permeabilitas pembuluh darah, gatal, rinore, sekresi lendir, dan kontraksi otot polos di paru-paru. Mediator dan sitokin yang dilepaskan selama fase awal respons imun terhadap alergen memicu respons inflamasi seluler lebih lanjut selama 4-8 jam berikutnya (respons inflamasi fase akhir) yang menghasilkan gejala berulang (biasanya hidung tersumbat) yang sering menetap (Small, *et al.*, 2018).



Gambar 2.3. Sensitisasi dan inflamasi yang diinduksi alergen

Antigen presenting cell (APC), seperti sel dendritik di permukaan mukosa, memproses alergen dan menyajikan beberapa peptida dari alergen pada kompleks histokompatibilitas utama (MHC) molekul kelas II. Kompleks molekul dan antigen kelas II MHC ini berperan sebagai sel T pada Sel T CD4+, yang menghasilkan diferensiasi sel CD4+T menjadi sel Th2 spesifik alergen. Sel Th2 yang teraktivasi mengeluarkan beberapa sitokin, yang menginduksi pergantian isotipe sel B untuk menghasilkan IgE spesifik dan proliferasi eosinofil, sel mast dan neutrofil (Min, 2010). Hipersensitivitas yang dimediasi non-IgE dapat berkembang karena infiltrasi eosinofilik dan obliterasi mukosa hidung. Mukosa hidung sekarang menjadi hiperreaktif terhadap rangsangan normal (seperti asap tembakau, udara dingin) dan menyebabkan gejala bersin, rinore, dan pruritis hidung (Akhouri & House, 2021).

2.5. Pemberian Probiotik terhadap kadar basofil pada penderita rhinitis alergi dilihat dari kadar basofil

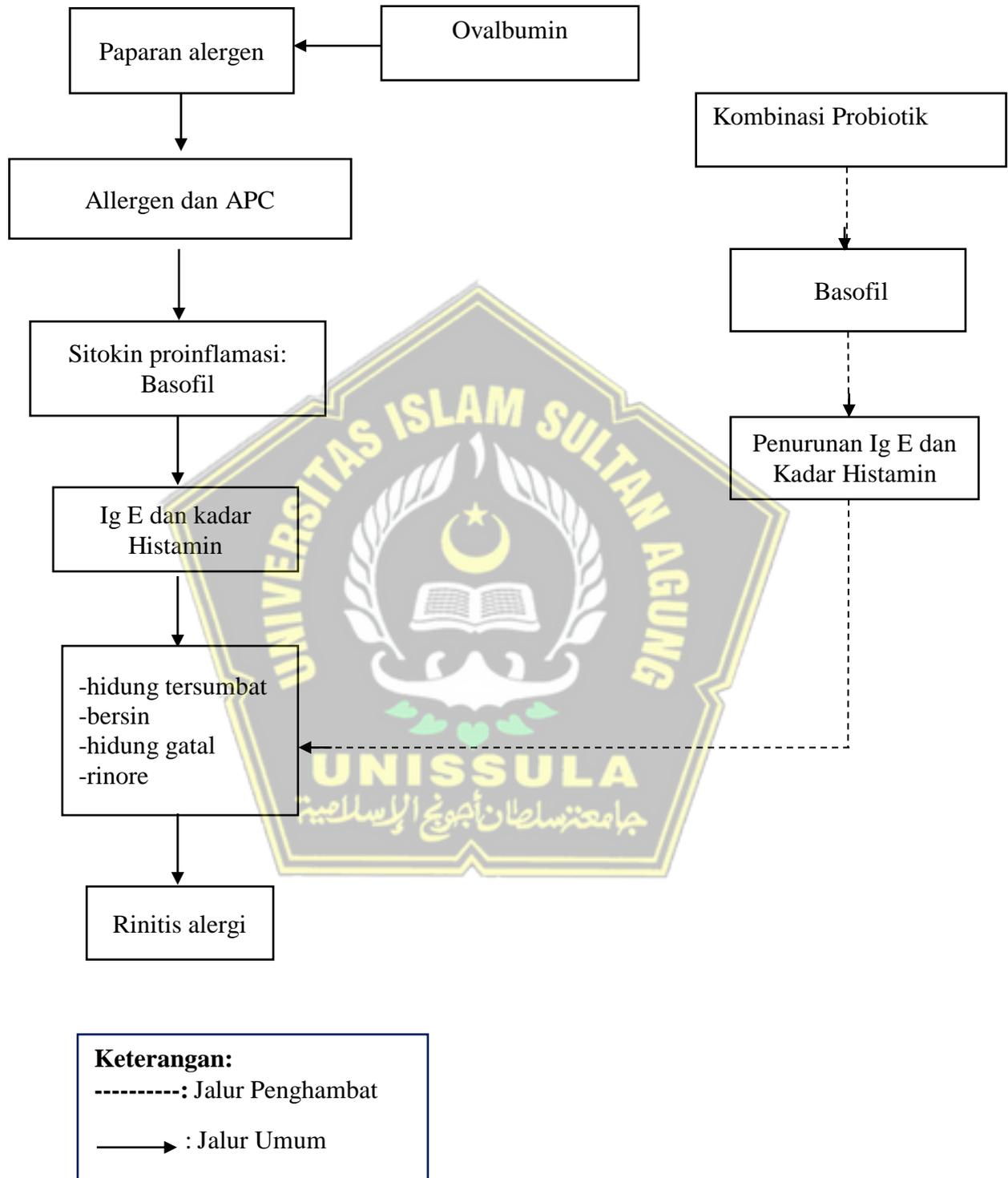
Strain *Lactobacillus* individu dari spesies yang sama secara berbeda menghambat aktivasi sel mast tikus dan basofil manusia yang bergantung pada IgE, dua jenis sel yang penting dalam timbulnya manifestasi alergi. Meskipun dalam penelitian tersebut gagal untuk mengidentifikasi gen bakteri tertentu yang terkait dengan penghambatan dengan analisis pencocokan sifat-gen analisis, temuan menunjukkan kompleksitas interaksi antara mikrobiota dan inangnya. Hasil ini menunjukkan bahwa beberapa

strain *L. paracasei* mungkin lebih bermanfaat dalam alergi daripada strain lain dan memberikan dasar untuk krining rasional strain bakteri asam laktat sebagai probiotik generasi berikutnya di bidang alergi (Cassard, *et al.*, 2006).

Penelitian lain menyebutkan pemberian oral probiotik *B. lactis* selama 8 minggu pada subjek dengan rinitis alergi seasonal hingga alergi serbuk sari secara signifikan menurunkan sitokin alergi dan pro-inflamasi dan mengurangi aktivasi sel basofil dibandingkan dengan pengobatan menggunakan plasebo (Singh, *et al.*, 2013).

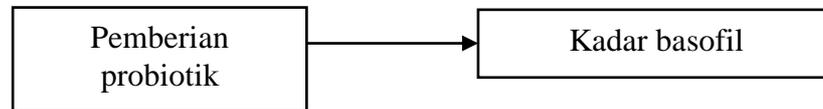


2.6. Kerangka Teori



Gambar 2.4. Kerangka Teori

2.7. Kerangka Konsep



Gambar 2.5. Kerangka Konsep

2.8. Hipotesis

Terdapat Pengaruh Pemberian Kombinasi Probiotik Terhadap Penurunan Kadar Basofil Pada Tikus Model rinitis Alergi.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian ini dilakukan dengan penelitian eksperimen dengan menggunakan rancangan penelitian “*post-test control group design*”.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel Bebas

Pemberian kombinasi Probiotik

3.2.1.2. Variabel Tergantung

Kadar Basofil

3.2.1.3. Variabel Perantara

Rinitis Alergi

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Probiotik

Bakteri probiotik yang digunakan adalah Kombinasi probiotik merk X *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus Salivarius*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactococcus lactis* dengan dosis yang telah dikonversi yang diperoleh dari sediaan komersial dengan dosis 54 mg/hari

dan diaplikasikan pada hewan coba dengan cara diberikan secara sonde oral.

Skala: Nominal

3.2.2.2. Kadar Basofil

Pemeriksaan hematologi darah pada penelitian ini dilakukan dengan cara otomatis menggunakan alat hematologi analyzer. Dilakukan pengambilan darah melalui pembuluh darah orbital (mata) sebanyak 100-300 μ l. Selanjutnya darah dimasukkan ke dalam tabung yang mengandung K3EDTA. Darah yang diperoleh tersebut selanjutnya diuji di Laboratorium PAU Universitas Gajah Mada Yogyakarta menggunakan hematology analyzer.

Skala: Ratio

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar di Laboratorium Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada.

3.3.2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar yang dipelihara dan dikembangkan di pusat antar universitas di Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Besar sampel dalam

penelitian ini adalah 5 ekor untuk setiap kelompok yang diambil secara random (WHO). Sejumlah 24 ekor tikus yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

3.3.2.1. Inklusi

- 1) Tikus jantan
- 2) Umur 6-8 minggu
- 3) Berat tubuh 200-250 gram
- 4) Sehat, bergerak aktif

3.3.2.2. Eksklusi

- 1) Tikus dengan kelainan anatomi
- 2) Pada penglihatan visual tikus tampak tidak aktif

3.3.2.3. Kriteria *Drop Out*

- 1) Tikus mati selama adaptasi
- 2) Tikus mati selama masa penelitian

3.3.3. Besar Sampel

Jumlah sampel yang digunakan sesuai dengan kriteria WHO yaitu minimal 5 ekor dalam satu kelompok. Serta penambahan 1 ekor tiap kelompok untuk mengantisipasi adanya drop out. Sehingga setiap kelompok memiliki 6 ekor tikus.

3.4. Instrumen dan bahan penelitian

3.4.1. Instrumen penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

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. Microtom Blade System (Tissue-Tek, Jepang)
18. Block holder mikrotom 2
19. Waterbath (Memmert)
20. Hot Plate (Labinco B.V., Belanda)

21. Oven
22. Mikroskop
23. Differential cell counter

3.4.2. Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Tikus wistar jantan
2. Probiotik L-bio
3. Ketamin (KTM 1000)
4. Phosphate Buffer Saline
5. Eter
6. Formalin 10%
7. Alkohol 70%, 80%, 95%, 100%
8. Xylol
9. Gliserin
10. Minuman dan makanan standar tikus wistar (Feedmill-Malindo, Gresik).

3.5. Cara penelitian

3.5.1. Pengajuan Ethical Clearence

penelitian diajukan ke Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

3.5.2. Dosis probiotik

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:

Dosis tikus = dosis manusia (mg) x 0,018

Tikus (200 g) = 3000 mg x 0,018 = 54 mg

Sehingga dosis probiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah 54 mg/hari.

Sehingga dosis probiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah 54 mg/hari (Nair & Jacob, 2016).

3.5.3. Dosis Terapi Utama

Berdasarkan penelitian oleh (Parisi *et al.*, 2020) pemberian cetirizine pada dewasa adalah 10 mg/ hari, setelah di konversi dosis manusia (70kg) pada tikus (200g) didapatkan hasil 0,018, sehingga untuk dosis tikus menjadi 0,18 mg (Nair & Jacob, 2016).

3.5.4. Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus galur wistar atau *Rattus Norvegicus* karena mereka memiliki kemampuan metabolisme yang cepat sehingga lebih sensitif apabila digunakan dalam penelitian yang berhubungan dengan metabolisme tubuh. Ciri-ciri galur Wistar, yaitu bertubuh panjang dengan kepala lebih

sempit, telinga tebal dan pendek dengan rambut halus, mata berwarna merah, dan ekornya tidak pernah lebih panjang dari tubuhnya. Bobot badan tikus jantan pada umur dua belas minggu mencapai 240 gram sedangkan betinanya mencapai 200 gram. Tikus memiliki lama hidup berkisar antara 4 – 5 tahun dengan berat badan umum tikus jantan berkisar antara 267 – 500 gram dan betina 225 – 325 gram (Clause, 1993)

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar (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/Strain : *Wistar*

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

3.5.5. Pembuatan Hewan Model 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 standart. Perlakuan dimulai dengan pemberian 300 μ l phosphate-buffered saline (PBS) dengan 25 μ g OVA + 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 μ l PBS dengan 500 μ g OVA 7 hari berturut turut hingga hari ke 27.

3.5.6. Kelompok Perlakuan Hewan Coba

- a. K1: Tikus jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standart.
- b. K2: Tikus jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standart dan diinduksi Ovalbumin
- c. K3: Tikus jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standart, diinduksi Ovalbumin, serta diberi cetirizine 0,18mg/hari.
- d. K4: Tikus jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standart, diinduksi Ovalbumin, serta diberi probiotik 54 mg/gBB/hari.

3.5.7. Lama Perlakuan

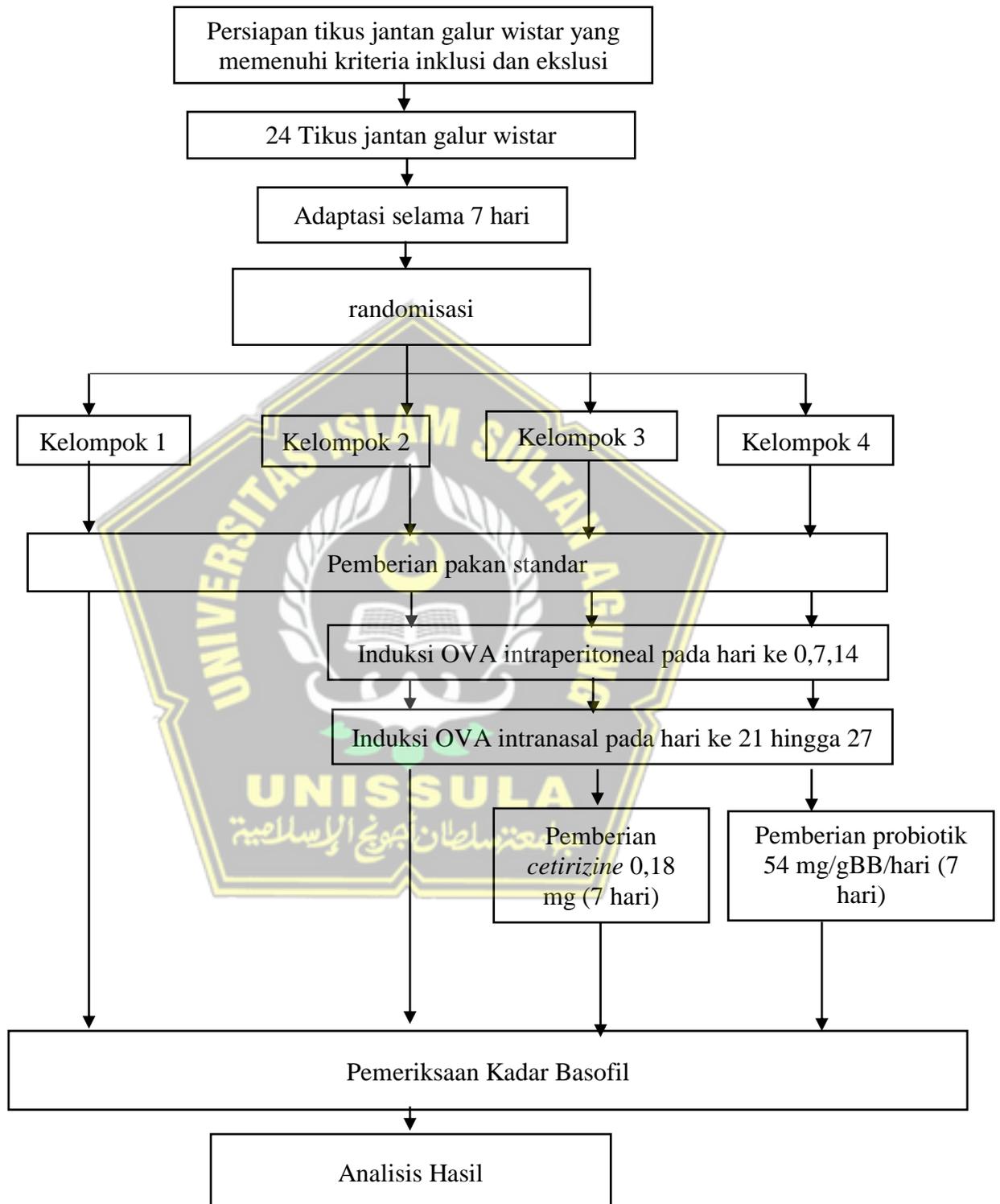
Pemberian terapi dimulai pada hari ke 28 setelah tikus diinduksi oleh OVA. Pemberian terapi dilakukan selama 7 hari. Dengan demikian, lama perlakuan penelitian ini adalah 35 hari.

3.5.8. Pengukuran Variabel Penelitian

Kadar basofil diambil dari sampel darah sebanyak 1 ml darah dilakukan pengambilan darah melalui pembuluh darah orbital sebanyak 100-300 μ l. Selanjutnya darah dimasukkan ke dalam tabung yang mengandung K3EDTA. Darah yang diperoleh tersebut selanjutnya diuji di Laboratorium Laboratorium pangan dan Gizi PAU Universitas Gadjah Mada Yogyakarta menggunakan hematology analyzer.



3.6. Alur Penelitian



Gambar 3.1. Alur Penelitian

3.7. Tempat dan Waktu Penelitian

3.7.1. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium pangan dan Gizi PAU Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

3.7.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2023.

3.8. Analisis Hasil

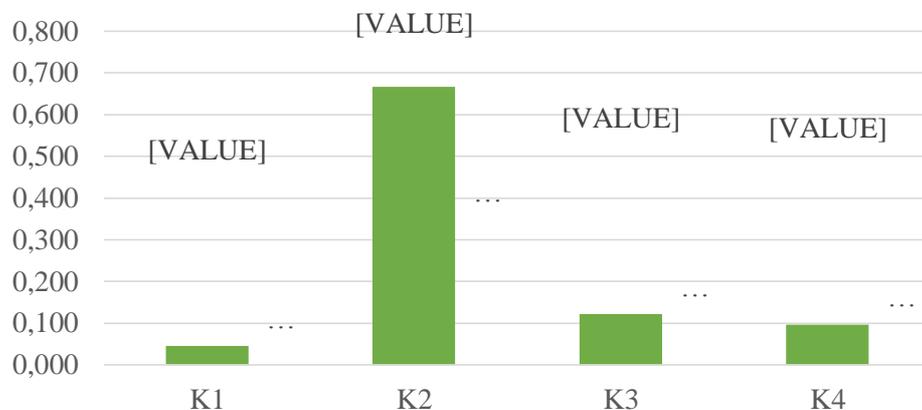
Hasil penelitian dianalisis menggunakan SPSS 26 Skala variable penelitian adalah rasio sehingga akan dilakukan uji parametrik. Untuk menentukan distribusi normal dapat menggunakan uji Shapiro-Wilk dan uji Lavene digunakan untuk menentukan homogenitas. Hasil uji Shapiro-Wilk dan uji Lavene ditemukan nilai ($p > 0,05$) maka artinya data yang telah di uji berdistribusi normal dan homogen. Selanjutnya data diuji dengan One Way Anova dan dilanjutkan dengan uji Post-Hoc LSD untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Dilanjutkan dengan analisis uji Post Hoc untuk pasangan kelompok yang berbeda. Hasil uji Post Hoc didapatkan $p < 0,05$ maka artinya terdapat perbedaan yang signifikan atau bermakna.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi probiotik (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus Salivarius*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactococcus lactis*) terhadap penurunan kadar basofil pada tikus model rinitis alergi. Sampel tikus dengan total 24 tikus terbagi dalam 4 kelompok dengan 6 tikus di tiap kelompok. Kelompok pertama diberikan pakan standard (K1), kelompok kedua diberikan pakan standard dan ovalbumin sebagai allergen, kelompok kedua diberikan pakan standard, ovalbumin dan cetirizine (K3) dan kelompok keempat diberikan pakan standard, ovalbumin dan probiotik (K4). Penelitian dilakukan bulan Februari 2023 setelah mendapat ethical clearance dari Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran atau Kesehatan FK Unissula. Kadar basofil yang dinilai setelah dilakukan intervensi ditampilkan di gambar 4.1.



Gambar 4.1. Grafik Rerata Kadar Basofil Pada Tiap Kelompok

Kelompok	Rerata \pm SD	Minimal	Maksimal	Frekuensi
K1	0.0450 \pm 0.005	0,04	0,05	6
K2	0.6667 \pm 0.015	0,65	0,68	6
K3	0.1217 \pm 0.014	0,10	0,14	6
K4	0.0967 \pm 0.008	0,09	0,11	6

Kelompok 2 yang diinduksi ovalbumin agar terjadi reaksi hipersensitivitas tipe 1 memiliki rerata basofil yang paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya dengan rerata $0,667 \pm 0,15\%$ dan nilai minimal 0,65 nilai maksimal 0,68. Kelompok 3 dan 4 yang diberikan cetirizine atau probiotik menunjukkan rerata kadar basofil yang lebih rendah dibandingkan K2 akan tetapi lebih tinggi dibandingkan K1 yang tidak diinduksi alergi dengan ovalbumin. Dari data kadar Basofil yang sudah didapatkan dilakukan uji normalitas, uji homogenitas dan uji hipotesis di tabel 4.1.

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

Kelompok	Uji Normalitas	Uji Homogenitas	p
K1	0.004 ^a	0.012 ^b	0.000 ^c
K2	0.029 ^a		
K3	0.804 ^a		
K4	0.091 ^a		

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

Data kadar basofil K1 dan K2 tidak memiliki sebaran data yang normal ($p < 0,05$). Hasil uji *Levene Test* didapatkan data data penelitian tidak homogen ($p < 0,05$) sehingga dilakukan uji hipotesis dengan *Kruskall Wallis*. Pemberian probiotik berpengaruh secara signifikan terhadap kadar Basofil pada tikus dengan model rinitis alergi ($p < 0,05$). Uji *post hoc* dilakukan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui hubungan antar kelompok.

Tabel 4.2. Hasil Uji Mann-Whitney

	K1	K2	K3	K4
K1		0.003*	0.003*	0.003*
K2	0.003*		0.004*	0.003*
K3	0.003*	0.004*		0.012*
K4	0.003*	0.003*	0.012*	

Keterangan= *perbedaan secara signifikan ($p < 0.05$)

Hasil dari uji multivariat atau post hoc didapatkan bahwa antara setiap kelompok memiliki perbedaan yang signifikan antar 2 kelompok yaitu pada kelompok K1 dengan K2, K1 dengan K3, K1 dengan K4, K2 dengan K3, K2 dengan K4, dan K3 dengan K4.

4.2. Pembahasan

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian untuk mencari dan mengidentifikasi kegunaan kombinasi probiotik sebagai terapi tambahan untuk mengurangi gejala rhinitis alergi. Penelitian ini mengidentifikasi manfaat kombinasi probiotik dalam memodulasi sistem imun khususnya pada kadar basofil yang berada pada tikus model rinitis alergi.

OVA atau yang dikenal sebagai ovalbumin merupakan protein yang memiliki kemampuan untuk memodulasi sistem imun sehingga dapat menginduksi dan meningkatkan kadar basofil. Tikus yang diinduksi berulang dengan ovalbumin memiliki kadar basofil yang lebih tinggi secara signifikan dikarenakan ovalbumin mengubah respon imun tikus pada sel Th2 yang dapat meningkatkan sel basofil, sel mast, dan eosinofil. Ovalbumin memiliki peran dalam memicu respon inflamasi serta menghasilkan kelompok sitokin Th2 dan sel basofil saat teraktifasi akan menghasilkan IL-4, IL-5, IL-9, dan IL-13 yang kemudian terjadi produksi

IgE, dalam hal ini menandakan adanya gejala alergi (Bates & Mathis, 2009). Kadar basofil yang meningkat pada kelompok K2 yaitu kelompok tikus yang diberi perlakuan ovalbumin juga sejalan dengan penelitian yg dilakukan oleh Zenobia dan Hajishengallis pada tahun 2018 yang menyebutkan bahwa induksi ovalbumin akan berdampak terhadap peningkatan basofil dan neutrofil akibat migrasi neutrofil yang dimediasi oleh IL-17 pada tikus (Zenobia & Hajishengallis, 2018). Hal tersebut dikuatkan oleh pendapat Lee, *et al.*, 2018 yang menyebutkan bahwa tikus yang diinduksi ovalbumin menunjukkan kadar basofil yang meningkat diakibatkan oleh adanya kegagalan apoptosis sel-sel radang seperti basofil, eosinophil, makrofag dan limfosit dimana hal tersebut ialah faktor penyebab rinitis alergi. Tikus yang diinduksi dengan ovalbumin akan menimbulkan produksi sel CD4+ yang menghasilkan Th2 yang selanjutnya disusul adanya sitokin pro inflamasi yaitu IL4, IL5, IL9, dan IL 13. Peningkatan IL-4 akan menginduksi limfosit B yang merupakan penyebab dari timbulnya IgE spesifik allergen sehingga IgE akan berikatan dengan sel-sel yang mempunyai reseptor IgE yaitu sel basofil, sel mast, sel eosinofil, makrofag, dan platelet apabila keadaan tersebut terjadi maka sel basofil akan meningkat dimana hal tersebut merupakan ciri serta gejala alergi dimulai dari infiltrasi sel radang menuju hidung (Lee, *et al.*, 2018)

Berdasarkan penelitian hasil kadar basofil pada kelompok perlakuan (K4) yang diberikan kombinasi probiotik serta ovalbumin memiliki nilai yang lebih rendah apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif

(K2) dikarenakan pemberian kombinasi probiotik dapat menurunkan kadar basofil dalam darah. Hal tersebut dikarenakan kombinasi probiotik mampu untuk menginduksi sitokin Th1, menghambat sitokin Th2, serta Th17 sehingga dapat menyebabkan penurunan kadar basofil (Owaga *et al.*, 2015). Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Lin *et al.*, 2018 yang menyatakan bahwa pada anak yang menderita rinitis terjadi perubahan IgE yang signifikan antara kelompok yang mendapat terapi probiotik serta placebo, dimana hal ini dikarenakan pada probiotik dapat mengaktifkan sel TReg yang akan menekan alergen pada respon inflamasi dengan makrofag sel NK dan sel DC (dendritic cell). Hasil tersebut juga sejalan dengan penelitian Lee, *et al.*, 2018 yang menyebutkan bahwa pemberian kombinasi probiotik efektif sebagai imunomodulator pada tikus yang disensitasi oleh ovalbumin (OVA) menunjukkan adanya penurunan kadar IgE spesifik ovalbumin dan IgE serta menghambat sitokin Th2 dan Th17 serta menginduksi produksi sitokin Th1 yang menyebabkan basofil dapat turun. Hal tersebut juga dikuatkan oleh pendapat dari Berlian Kusuma, 2017 yang menyebutkan bahwa probiotik memiliki sifat anti inflamasi dan imunodilator melalui berbagai jalur penghambatan seperti jalur NF-kB, 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 (Berlian Kusuma, 2017). Pada penelitian yang dilakukan oleh Matsuzaka *et al.*, 2017 juga membuktikan

bahwa kombinasi probiotik mampu meningkatkan respon imun mukosa pada antigen dimana kandungan eksopolisakarida pada probiotik memiliki efek stimulan pada sistem imun, sehingga dapat disimpulkan dari penelitian yang dilakukan oleh Sredkova *et al.*, 2021, bahwa probiotik dapat memodulasi sistem imun, dan kemampuan tersebut bergantung pada strain probiotik dan substrat tempat probiotik tumbuh sehingga dapat menghasilkan imunomodulasi yang berbeda. Kemampuan imunomodulasi probiotik juga didukung oleh asupan nutrisi serta pola makan inangnya (Sredkova *et al.*, 2021a).

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

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah tidak dilakukan pemeriksaan kandungan kombinasi probiotik lainnya yang berpengaruh dalam penurunan gejala rinitis alergi.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

- 5.1.1. Terdapat pengaruh pemberian kombinasi probiotik (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus Salivarius*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactococcus lactis*) terhadap penurunan kadar basofil pada tikus model rinitis alergi.
- 5.1.2. Rerata kadar basofil pada tikus jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standart.adalah $0,045 \pm 0.005$.
- 5.1.3. Rerata kadar basofil pada tikus jantan galur Wistar yang mendapat diet pakan standart dan diinduksi ovalbumin adalah $0,667 \pm 0.015$.
- 5.1.4. Rerata kadar basofil pada tikus jantan galur Wistar yang mendapat diet pakan standart, diinduksi ovalbumin, dan diberi cetirizine 0,18 mg adalah $0,122 \pm 0.015$.
- 5.1.5. Rerata kadar basofil pada tikus jantan galur Wistar yang mendapat diet pakan standart, diinduksi ovalbumin, dan diberi kombinasi probiotik dengan dosis 54 mg/gBB adalah $0,097 \pm 0.008$.
- 5.1.6. Terdapat perbedaan rerata kadar basofil pada tiap-tiap kelompok penelitian.

5.2. Saran

Perlu dilakukan pengembangan lebih lanjut dengan menggunakan dosis berbeda serta kandungan kombinasi probiotik yang lebih bervariasi untuk melihat efektifitas yang lebih baik dalam penurunan gejala rinitis alergi.



DAFTAR PUSTAKA

- Akhouri, S., & House, S. (2021, Maret 31). NCBI. Retrieved from NCBI
- Bates, N.R. and Mathis, J.T. (2009) The Arctic Ocean marine carbon cycle: evaluation of air-sea CO₂ exchanges, ocean acidification impacts and potential feedbacks, *Biogeosciences*. Available at: www.biogeosciences.net/6/2433/2009/.
- Berlian Kusuma, K. (no date) CONTINUING PROFESSIONAL DEVELOPMENT Probiotik dan Peranannya pada Penyakit Alergi Anak.
- Corsico, A.G. *et al.* (2019) 'Focus on the cetirizine use in clinical practice: A reappraisal 30 years later', *Multidisciplinary Respiratory Medicine*. BioMed Central Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40248-019-0203-6>.
- Kawauchi, H. *et al.* (2019) 'Antihistamines for allergic rhinitis treatment from the viewpoint of nonsedative properties', *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms20010213>.
- Lee, J., Bang, J. and Woo, H.J. (2013a) 'Effect of orally administered *Lactobacillus brevis* HY7401 in a food allergy mouse model', *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(11), pp. 1636–1640. Available at: <https://doi.org/10.4014/jmb.1306.06047>.
- Lee, J., Bang, J. and Woo, H.J. (2013b) 'Effect of orally administered *Lactobacillus brevis* HY7401 in a food allergy mouse model', *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(11), pp. 1636–1640. Available at: <https://doi.org/10.4014/jmb.1306.06047>.
- Miura Susanto, P. and Brenda Makagiarsar (2022) 'Tatalaksana Dermatitis Atopik Pada Anak', *Jurnal Medika Utama*, 3(2), pp. 2248–2260.
- Nair, A. and Jacob, S. (2016) 'A simple practice guide for dose conversion between animals and human', *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 7(2), p. 27. Available at: <https://doi.org/10.4103/0976-0105.177703>.
- Owaga, E. *et al.* (2015) 'Th17 cells as potential probiotic therapeutic targets in inflammatory bowel diseases', *International Journal of Molecular Sciences*, 16(9), pp. 20841–20858. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms160920841>.
- Parisi, G.F. *et al.* (2020) 'Cetirizine use in childhood: An update of a friendly 30-year drug', *Clinical and Molecular Allergy*. BioMed Central Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12948-020-00118-5>.

Randall, K.L. and Hawkins, C.A. (2018) 'Antihistamines and allergy', *Australian Prescriber*, 41(2), pp. 42–45. Available at: <https://doi.org/10.18773/austprescr.2018.013>.

'rodak39s-hematology-clinical-principles-and-application-5th-edition_compress' (no date).

Sredkova, P. *et al.* (2021) 'Prebiotics can change immunomodulatory properties of probiotics', *Central European Journal of Immunology*, 45(3), pp. 248–255. Available at: <https://doi.org/10.5114/CEJI.2020.101237>.

Tanaka, W. and Amaliah, M. (2020) Prevalensi rinitis alergi berdasarkan gejala klinis pada mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara angkatan 2015, *Tarumanagara Medical Journal*.

Zenobia, C. and Hajishengallis, G. (2016) 'inflammation', 69(1), pp. 142–159. Available at: <https://doi.org/10.1111/prd.12083.Basic>.

