

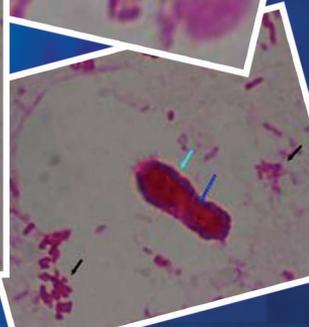
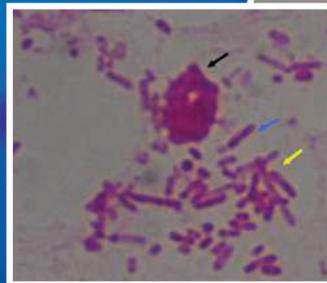
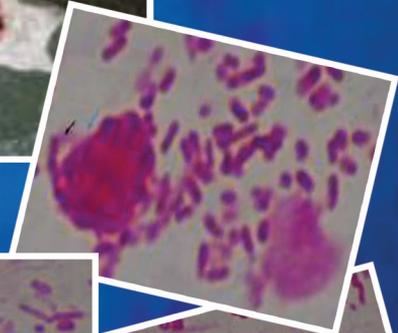


PT. Intisari Sains Medis

I DEWA MADE SUKRAMA

Probiotik Bifidobacteria:

Peran Aktivitas Antagonis Melawan Patogen Enterik Melalui Modulasi Sistem Imun



Editor :
I Putu Yuda Prabawa
Ida Bagus Amertha Putra Manuaba
I Made Yoga Prabawa
Agha Bhargah

Probiotik Bifidobacteria: Peran Aktivitas Antagonis Melawan Patogen Enterik Melalui Modulasi Sistem Imun

I Dewa Made Sukrama



PT. Intisari Sains Medis

**Probiotik Bifidobacteria:
Peran Aktivitas Antagonis Melawan Patogen
Enterik Melalui Modulasi Sistem Imun**

Penulis :

I Dewa Made Sukrama

Editor :

I Putu Yuda Prabawa
Ida Bagus Amertha Putra Manuaba
I Made Yoga Prabawa
Agha Bhargah

Layout dan Desain Sampul :

Wayan Iwan Suryawan

Penerbit :

PT. Intisari Sains Medis

Redaksi :

Jl. Batanghari IIIC, No. 9
Kelurahan Panjer, Denpasar Selatan
Denpasar - Bali

Distributor Tunggal

PT. Intisari Sains Medis
Jl. Batanghari IIIC, No. 9
Kelurahan Panjer, Denpasar Selatan
Denpasar - Bali

Cetakan pertama : Oktober 2019
2019, viii + 53 hlm, 15 x 23 cm

ISBN : 978-602-52786-4-8

Hak cipta dilindungi undang-undang
Delarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan
cara apapun tanpa ijin tertulis dari penerbit

Kata Pengantar



Pemanfaatan probiotik untuk kesehatan saluran pencernaan memegang peranan yang penting bagi manusia. Hal ini dikarenakan probiotik dapat merangsang respon imun tubuh dalam kaitannya dengan aktivitas antagonis melawan pathogen enterik melalui modulasi sistem imun tubuh. Akan tetapi tidak setiap jenis probiotik dapat menjalankan perannya dalam melawan patogen enterik tubuh, salah satu probiotik yang memiliki peran tersebut berasal dari genus *Bifidobacteria*.

Monografi ini akan mencoba membahas beberapa aspek penting dimana meliputi system saluran pencernaan, peran mukosa sistem gastrointestinal (GIT) dalam respon imunitas, sebelum pemaparan secara mendalam terhadap pandangan umum *Bifidobacteria* sebagai probiotik. Hal-hal yang akan penulis coba kupas secara tajam dalam monografi ini meliputi aspek morfologi dan fisiologi, aktivitas antagonis, kerentanan terhadap antibiotik, kebutuhan nutrisi, imunomodulasi, maupun respon imun tubuh yang diinduksi oleh *Bifidobacteria*.

Selain membahas perspektif umum, monografi ini juga akan mencoba untuk mengulas lebih dalam tentang aspek in vitro probiotik *Bifidobacteria* terhadap respon adesi yang terjadi pada *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) maupun mekanisme perlindungan *Bifidobacteria* terhadap invasi patogen asing dalam sistem pencernaan. Hal tersebut akan meliputi pemaparan tentang peran *Bifidobacteria* dalam menghasilkan metabolit untuk menurunkan pH saluran cerna, pelepasan bakteriosin, maupun peningkatan perlindungan lapisan epitelium saluran pencernaan dan respon imunomodulator. Besar harapannya pemaparan yang disampaikan pada monograf ini dapat memberikan pemahaman arti penting probiotik *Bifidobacteria* dalam menjaga kesehatan saluran pencernaan kita.

Denpasar, Agustus 2019

Penulis

Daftar Isi



Kata Pengantar	iii
Daftar Isi	v
Daftar Gambar	vi
Daftar Tabel	viii
Sistem Imun Saluran Pencernaan	1
Arsitektur Sistem Saluran Pencernaan.....	1
Sistem Perlindungan Non-imun Saluran Pencernaan.....	2
Sekresi Asam Saluran Pencernaan	4
Motilitas Saluran Pencernaan.....	4
Flora Saluran Pencernaan	5
Peran Mukosa Sistem Gastro Intestinal (GIT) dalam	
Respon Imunitas	7
<i>Gut Associated Lymphoid Tissue (GALT)</i>	8
Kontrol Absorpsi Antigen di dalam Saluran Pencernaan .	10
Toleransi oral	10
Sensitivitas terhadap alergi.....	12
Bifidobacteria dalam Perspektif Umum	14
Gambaran Morfologi.....	14
Ekologi	15
Fisiologi <i>Bifidobacteria</i>	17
Aktivitas antagonis.....	19
Kerentanan terhadap antibiotik	20
Kebutuhan Nutrisi	21
Imunomodulasi <i>Bifidobacteria</i>	22
Respon Imun yang diinduksi oleh <i>Bifidobacteria</i>	23
Mekanisme Respon Imun yang diinduksi oleh	

<i>Bifidobacteria</i>	27
Aspek In Vitro Probiotik <i>Bifidobacteria</i> terhadap Adesi pada <i>Enteropathogenic Escherichia coli</i> (EPEC)	30
Adesi EPEC pada GIT	31
Uji hambatan adesi patogen oleh bifidobacteria.....	37
Mekanisme Perlindungan <i>Bifidobacteria</i> Terhadap Invasi Patogen Sistem Pencernaan	39
Produksi Metabolit dan Menurunkan pH	39
Pelepasan Bakteriosin.....	40
Peningkatan Perlindungan Lapisan Epitelium Saluran Pencernaan	41
Efek Imunomodulator	42
Peran <i>Bifidobacteria sp.</i> dalam Upaya Tatalaksana dan Pencegahan Diare	44
Daftar Pustaka	48

Daftar Gambar



Gambar 1.	Arsitektur jaringan limfoid terkait sel-M dan saluran cerna. Diagram ini menunjukkan lokasi sel-M khusus dalam epitel terkait folikel, atasnya GALT. Salah satu mekanisme pengenalan antigen yang diusulkan dalam saluran GI adalah bahwa antigen masuk melalui sel M untuk dipresentasikan pada sel B dan T yang mendasarinya oleh sel dendritik dari SED.	3
Gambar 2.	Mekanisme Toleransi Oral dalam Hubungannya dengan Antigen	
Gambar 3.	Poto mikroskop elektron morfologi <i>Bifidobacteria</i> dimana memiliki ciri khas berbentuk batang pendek menyerupai huruf Y atau V. (Modler, 2006).....	3 11
Gambar 4.	Perubahan Jumlah <i>Bifidobacteria</i> terhadap Usia (Mitsuoka, 1978).....	
Gambar 5.	<i>Bifidobacteria</i> di dalam epitel kolon yang mengalami penurunan sejalan dengan perjalanan usia,.....	15
Gambar 6.	Mekanisme Induksi Respon Imun Pencernaan oleh Bakteri Probiotik termasuk <i>Bifidobacteria</i> (EC=intestinal epithelial cells; MQ=macrophages; TL=lymphocytes; BL=B lymphocytes; MS=mast cells; PC=plasma cells).....	16 17 28
Gambar 7.	Mekanisme Induksi Respon Imun oleh Bakteri Probiotik dalam Peyer's patches (DC=sel-sel dendrit; MQ=makrofag; APC=antigen-presenting cells; TL=limfosit T; BL=limfosit B).....	29
Gambar 8.	Gambaran arsitektur epitel melapisi saluran pencernaan	32
Gambar 9.	Mekanisme perlindungan bifidobacteria ditampilkan terhadap invasi patogen dan imunomodulasi pada epitel usus inang.....	43
Gambar 10.	Kemampuan adhesi <i>Bifidobacterium</i> (→) terhadap sel enterosit (→) dengan pembesaran 1000 kali.....	45

Daftar Tabel



Tabel 1.	Jumlah perlekatan/adhesi <i>E. coli</i> pada sel enterosit pasca paparan konsentrasi 51,74 kDa adhesin dari <i>Bifidobacterium sp.</i>	46
-----------------	---	----

Sistem Imun Saluran Pencernaan



Saluran gastrointestinal (GI) (saluran pencernaan) memainkan peran ganda dalam fisiologi manusia: pencernaan dan penyerapan nutrisi dan tugas yang lebih utama untuk mempertahankan homeostasis sistem imun (melindungi tubuh dari mikroba yang berpotensi berbahaya, sambil menginduksi respons tolerogenik terhadap makanan tidak berbahaya, komensal, dan antigen sendiri). Arsitektur unik dari saluran GI memfasilitasi kedua fungsi ini; berbagai tingkat lipatan menghasilkan luas permukaan keseluruhan yang sangat besar yang memungkinkan penyerapan nutrisi maksimal sementara menampung sel-sel imun terbesar dalam tubuh. Berkaitan dengan hal tersebut maka bab ini akan mencoba untuk mengulas system imun saluran pencernaan secara komprehensif.

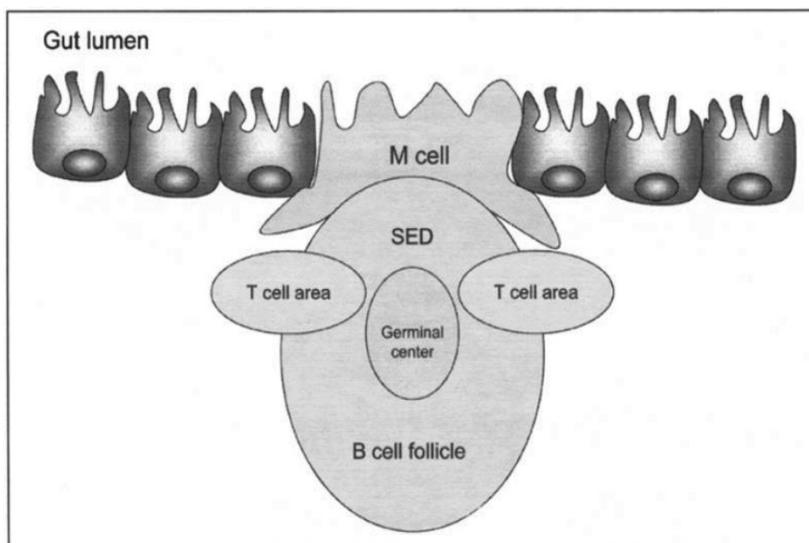
Arsitektur Sistem Saluran Pencernaan

Arsitektur saluran pencernaan dirancang untuk memfasilitasi peran ganda yang ditangani oleh organ: penyerapan nutrisi dan pertahanan terhadap PPO. Luas permukaan saluran GI yang luas (sekitar 200 m²) adalah hasil dari beberapa tingkat invaginasi pada jaringan (lipatan Kerkring), seluler (vili) dan tingkat membran (mikrovili). Pada tingkat sel, vili dilapisi dengan sel epitel usus (IEC)

yang memiliki mikrovili serap untuk mengoptimalkan penyerapan nutrisi yang dilepaskan selama pencernaan. Ujung-ujung mikrovili ini membentuk glikokaliks brush border berfilamen (FBBG) yang tersusun dari lapisan glikoprotein tertanam membran, yang memungkinkan nutrisi melintasi sementara membatasi masuknya seluruh bakteri atau molekul besar. Arsitektur jaringan limfoid terkait gastrointestinal (GALT) dirancang untuk membatasi dan mengendalikan respons imun melalui pemisahan induktif dan efektor. Situs induktif terdiri dari agregasi terorganisir folikel limfoid dan termasuk patch Peyer (PP) maupun kelenjar getah bening mesenterika (MLN). PPs biasanya ditemukan di dalam ileum distal usus kecil, di mana mikrobiota lebih banyak dan beragam. PP dewasa adalah kubah yang terlihat secara makroskopik dan memiliki struktur organisasi yang mirip dengan kelenjar getah bening. Subepithelial dome (SED) dari PPs terdiri dari folikel sel B yang besar dengan memberikan intervensi pada area sel T yang bekerja untuk mengumpulkan antigen dari permukaan epitel dalam saluran GI. Salah satu ciri khas dari monolayer khusus ini adalah adanya sel-M, yang dinamai demikian karena penampilannya "microfold". Pembentukan dan pengembangan sel-M berukuran penuh membutuhkan stimulasi dari B-lymphocytes yang matang, terutama melalui ekspresi LTA132. Glikokalik perbatasan sikat berfilamen, serta lapisan lendir khas saluran GI, hilang dari permukaan apikal sel-sel ini. M-sel mengangkut antigen ke APC khusus dalam SED yang mendasarinya melalui transportasi vesikuler (Gambar 1). Topik bahasan tentang system imun pada saluran cerna akan dibahas pada sub bab berikutnya.

Sistem Perlindungan Non-imun Saluran Pencernaan

Pada dasarnya sistem imun humoral dan selular sangat berperan dalam sistem imunitas saluran pencernaan. Di samping itu, di saluran pencernaan juga berperan sistem non-imun, yang mekanismenya mencakup sekresi asam saluran pencernaan (gastric



Gambar 1. Arsitektur jaringan limfoid terkait sel-M dan saluran cerna. Diagram ini menunjukkan lokasi sel-M khusus dalam epitel terkait folikel, atasnya GALT. Salah satu mekanisme pengenalan antigen yang diusulkan dalam saluran GI adalah bahwa antigen masuk melalui sel M untuk dipresentasikan pada sel B dan T yang mendasarinya oleh sel dendritik dari SED.

acid), motilitas saluran pencernaan (intestinal motility), mikroflora saluran pencernaan (intestinal microflora), lisosima (lysozyme), sekresi pankreas (pancreatic secretions) dan empedu (bile). Sistem non-imun ini mempresentasikan dan bahkan dapat dikatakan sebagai pertahanan lini pertama saluran pencernaan. Keasaman saluran pencernaan (gastric), motilitas saluran pencernaan, efek antibakteri enzim-enzim pankreas, flora saluran pencernaan yang normal, lisosima, dan sekresi saluran pencernaan merupakan faktor-faktor efektif antimikroba yang berperan dalam sistem imunitas non-spesifik. Demikian juga gabungan fungsi normal sel epitel dan motilitas saluran pencernaan secara bersama-sama membersihkan saluran pencernaan dari mikroorganisme yang membahayakan. Penurunan fungsi imunitas non-imun ini berakibat pada peningkatan terjadinya infeksi di saluran pencernaan. Sebagai

contoh, penurunan fungsi motilitas saluran pencernaan berujung pada simpton sigelosis berkepanjangan.

Sekresi Asam Saluran Pencernaan

Infeksi bakteri, virus, dan parasit memicu penurunan sekresi asam saluran pencernaan. Infeksi bakteri, salmonelosis, tuberkulosis, dan bronkopneumonia berhubungan dengan penurunan histamine yang distimuli oleh sekresi asam saluran pencernaan. Mekanisme penurunan sekresi asam saluran pencernaan masih belum diketahui dengan jelas. Awalnya hanya diprediksi akibat dari efek morfologi secara langsung infeksi terhadap mukosa saluran pencernaan. Tanda-tanda penurunan sekresi asam saluran pencernaan saat terjadi infeksi akan lebih jelas bila disertai terjadinya demam. Sehingga hal ini dapat mengacaukan antara terjadinya demam yang lebih doiminan memicu penurunan sekresi asam dibandingkan kejadian infeksi. Hal ini dapat ditunjukkan pada kasus hipoklorhidria yang dapat memicu terjadi demam dengan peningkatan suhu tubuh penderitanya dari 37-39 °C. Padahal kenyataanya, peningkatan suhu tubuh ini adalah akibat infeksi yang memodulasi peningkatan prostaglandin dan memicu penurunan sekresi asam saluran pencernaan.

Motilitas Saluran Pencernaan

Salah satu mekanisme penting mekanisme imunitas saluran pencernaan adalah motilitas saluran pencernaan. Dalam sistem pencernaan dikenal suatu istilah “intestinal housekeeper” yang bermakna bahwa saat terjadi pencernaan makanan disaluran pencernaan berlangsung aktivitas fase-III oleh interdigestive motor complex (MMC) selama 84-112 menit. Pada proses ini kemudian terjadi suatu kontraksi yang memindahkan hasil cerna ke usus halus dengan kecepatan 6-8 cm/menit. Pada pintu masuk usus halus, asam yang disekresikan oleh saluran pencernaan menghancurkan

organisme yang berasal dari luar. Sementara di bagian atas saluran pencernaan saat terjadi mekanisme housekeeper terjadi penghancuran mikroba yang lolos dari gastric acid barrier sehingga mencegah terjadinya stagnasi dan pertumbuhan bakteri patogen. Peran penting lain dari aktivitas ini adalah untuk menjaga keseimbangan distribusi mikroflora enteric endogen dan mencegah migrasi organisme dari kolon. Motilitas saluran pencernaan sudah barang tentu juga berdampak negative terhadap sistem ekologi normal saluran pencernaan. Dalam artian, peningkatan aktivitas motilitas mereduksi bakteri pada mikroflora normal saluran pencernaan. Sebaliknya, penurunan aktivitas motilitas saluran pencernaan memicu stasis dan pertumbuhan bakteri patogen berlebih di dalam saluran pencernaan. Pada kasus pertumbuhan bakteri yang berlebih di usus halus ditemukan adanya gangguan keseimbangan motilitas saluran pencernaan. Gangguan ini secara dominan adalah sebagai hasil ketidakseimbangan motilitas, bukan akibat dari pertumbuhan bakteri yang berlebih tersebut.

Mekanisme bagaimana pengaruh infeksi enterik di saluran pencernaan belum diketahui dengan pasti. Namun, riset pada hewan percobaan memberikan informasi, bahwa dihasilkan pola abnormal smooth muscle motor activity akibat serangan enterotoksin bakteri. Lebih detail ditemukan bahwa serangan toksin kolera pada kelinci menghasilkan pola listrik abnormal yang disebut migrating action potential complex (MAPC) yang aktivitasnya sangat progresif dalam menyerang saluran pencernaan.

Flora Saluran Pencernaan

Saluran pencernaan berfungsi sebagai pelindung terhadap antigen yang berasal dari mikroorganisme dan makanan. Terciptanya pengaturan sistem fisiologi imun di dalam saluran pencernaan sangat bergantung pada keberadaan mikroflora asli di dalam saluran pencernaan. Kesemuanya ini mendasari ditemukannya terapi yang

berbasis pada konsumsi mikroorganisme yang menguntungkan yang berperan sebagai probiotik. Salah satu mekanisme peran terapi probiotik adalah menstimuli sistem perlindungan nonimmunologic dalam saluran pencernaan mencakup normalisasi peningkatan permeabilitas serta mengubah mikroekologi saluran pencernaan. Mekanisme lainnya adalah peningkatan intestine's immunologic barrier, khususnya melalui respon immunoglobulin A dan reduksi respon inflamasi saluran pencernaan yang menghasilkan efek stabilisasi pada saluran pencernaan.

Peran probiotik kebanyakan dimediasi oleh pengaturan sistem imun, khususnya melalui penyeimbangan antara sitokin proinflamasi dan anti-inflamasi. Data penelitian membuktikan bahwa peran probiotik adalah dapat mengurangi inflamasi pada saluran pencernaan; menormalkan disfungsi mukosal; dan menormalkan reaksi hipersensitivitas down-regulate. Data juga menunjukkan bahwa terdapat peranan yang berbeda dari masing-masing probiotik yang berbeda. Sistem pengaturan imunitas yang berbeda juga diamati pada pasien normal dan yang mengalami inflamasi.

Peran Mukosa Sistem Gastro Intestinal (GIT) dalam Respon Imunitas



Peran utama saluran pencernaan (*gastrointestinal tract*/GIT) adalah untuk menghancurkan dan mengabsorpsi nutrisi demi memenuhi kebutuhan metabolisme dan pertumbuhan serta perkembangan tubuh. GIT tersusun dari bagian-bagian *intraepithelial* (IE) dan lamina propria (LP), serta *gut-associated lymphoid tissues* (GALT) termasuk Peyer's patches (PP) dan *mesenteric lymph nodes* (MLN). Kesemua kompartemen ini memiliki sel-sel imun yang menyebar dan berperan dalam aktivasi respon imun melawan infeksi serta menjaga toleransi oral terhadap mikroba pencernaan komensal maupun antigen yang berasal dari makanan. Mukosa GIT juga berperan dalam memproteksi pertahanan inang terhadap adanya antigen dari makanan dan mikroorganisme dalam lumen GIT. Perlindungan terhadap bahan-bahan yang berbahaya melibatkan banyak faktor, seperti; saliva, asam-asam pencernaan, *peristalsis*, mukus, *intestinal proteolysis*, *intestinal flora*, dan membran sel epitel dengan *intercellular junctional complexes*.

Konsumsi makanan menginisiasi pelepasan hormon trofik, aktivasi sekresi, motilitas, dan absorpsi. Selama pertumbuhan fase post-natal terjadi proses pendewasaan lanjut dan adaptasi sistem

pertahanan *gut barrier* mencakup munculnya protein mukosa dan enzim digestif, serta perkembangan flora intestin. Asam-asam pencernaan merupakan sistem pertahanan yang penting terhadap serangan mikroorganisme, demikian juga terjadi sekresi asam klorida oleh mukosa pada 1 bulan pertama setelah lahir. Mukus sel goblet yang menyelimuti permukaan epitel pada GIT merupakan *physical barrier* yang mempengaruhi adesi antigen luminal pada saluran pencernaan. Berkembangnya bakteri asli GIT dapat mencegah pertumbuhan patogen yang berlebihan. Pendewasaan juga dapat mempengaruhi membran sel epitel yang merupakan interface antara lingkungan bagian dalam inang dengan kandungan luminal. Penelitian pada hewan menunjukkan bahwa pendewasaan postnatal membran *intestinal brush border* berhubungan dengan kapasitasnya dalam mengikat protein yang berasal dari makanan. Kemampuan antigen untuk mengikat sel-sel epitel berhubungan dengan *rate* dan *route* transfer antigen dan juga mempengaruhi intensitas respon imun mukosa.

Gut Associated Lymphoid Tissue (GALT)

GALT menyediakan jumlah jaringan limfoid terbanyak dalam tubuh manusia, dan tersusun dari unsur-unsur penting yang mampu berperan dalam sistem imunitas total inang. Permukaan membran mukosa dilindungi oleh sistem imun adaptif lokal. Pengaturan respon sistem imun berlangsung pada bagian-bagian fisiologi yang berbeda: agregasi terjadi pada *follicles* dan *Peyer's patches*, sedangkan distribusi pada mukosa, dan bagian sekresi pada epitel intestin. Limfosit T *intra epithelial* umumnya berperan sebagai supresor dan sitotoksik *phenotype*, sedangkan sel-sel lamina propria berperan sebagai *helper* dan *inducer phenotype*. Lamina propria perannya didukung pula oleh limfosit sel B. Produksi antibodi Immunoglobulin A (IgA) terbanyak pada permukaan mukosa, berbeda dengan IgA serum sekresinya berada dalam bentuk dimer dan polimer. Sekresi IgA tahan terhadap proteolisis intraluminal

dan tidak mengaktifkan respon inflamasi, mengakibatkan sekresi IgA ini ideal dalam memproteksi permukaan mukosa. Terdapat perbedaan antara bagian atas dan bawah sistem imun saluran pencernaan dalam distribusi isotip sel-sel yang memproduksi immunoglobulin. Imunosit IgA1 mendominasi usus halus, sedangkan sel-sel yang memproduksi IgA2 banyak didapatkan pada kolon yang resistan terhadap bakteri protease. Sekresi antibodi IgA dalam saluran pencernaan merupakan bagian dari sistem imun mukosa yang mencakup juga *respiratory tract*, *lacrimal*, *salivary*, dan *mammary glands*. Sehingga respon imun yang terjadi pada saluran pencernaan juga mempengaruhi respon imun pada permukaan mukosa lainnya. Siklus maturasi limfosit mencakup transpor antigen menuju *Peyer's patches* dan presentasi antigen terhadap fenotif *helper* dan *inducer* limfosit T yang memicu respon sel B. Antibodi spesifik yang disekresikan oleh limfosit terlihat pada perifer darah setelah 2-4 hari terpapar antigen, mencapai konsentrasi maksimum setelah 6-8 hari, dan berada pada darah selama 2-3 minggu. Supresi antigen sistemik dapat teramati setelah 1-2 hari pemberian antigen tersebut, dan toleransi oral terhadap antigen tersebut terjadi setelah 5-7 hari setelah pemberian.

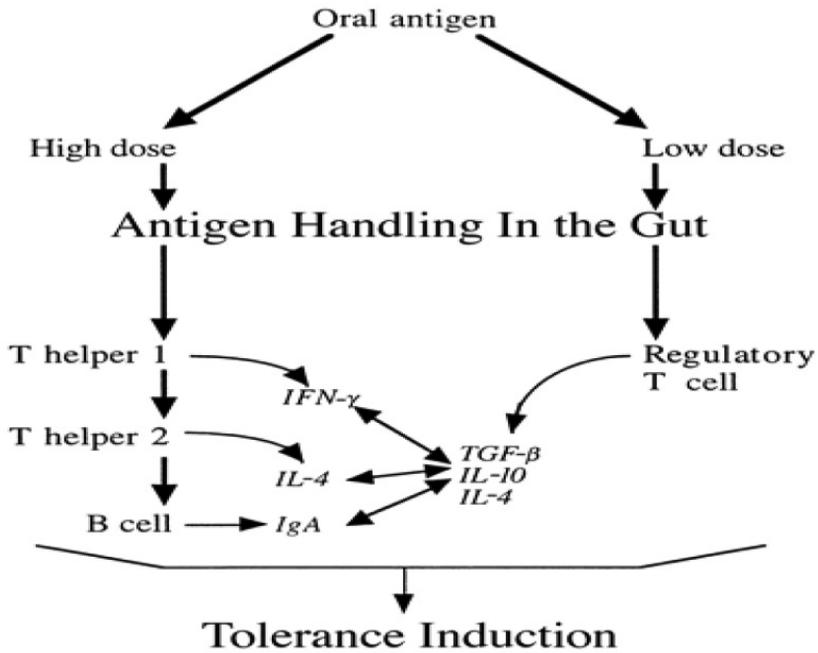
Data penelitian menunjukkan bahwa interaksi limfosit dengan epitel intestin memegang peranan terpenting dalam imnitas saluran pencernaan. Limfosit khususnya yang termasuk sel B dapat menginduksi enterosit menjadi sel yang menyerupai sel M, suatu epitel yang unik tersusun oleh *cuboidal epithelial cells*, sel-sel goblet, dan sel pengenal antigen khusus yang menyerupai *Peyer's patches*. Sel-sel ini sangat efektif mentransfer partikel dan mikroba dari lumen saluran pencernaan menuju folikel. Induksi sel-sel B oleh probiotik dapat mempengaruhi imunitas mukosa dan sekresi IgA. Limfosit intraepitel, khususnya sel-sel T dengan reseptor γ dan δ juga berperan dalam mekanisme terjadinya imunitas mukosa. Sel-sel ini berinteraksi dengan sel-sel epitel dan memproteksi mukosa dengan membunuh sel-sel terinfeksi dan memicu sel-sel imun lainnya untuk menghancurkan mikroba penyebab infeksi.

Kontrol Absorpsi Antigen di dalam Saluran Pencernaan

Usus halus tertantang oleh sejumlah antigen yang masuk secara enterik. Hal ini mengakibatkan usus halus terpapar dengan beragam antigen. Kebanyakan antigen dihancurkan oleh *mucosal barrier* dalam saluran pencernaan. Pada garis terdepan pertahanan saluran pencernaan (*immune exclusion*) terjadi mekanisme transpor antigen di dalam vili epitel. Antigen diserap menembus lapisan epitel oleh transitosi, di sini terjadi penghancuran melalui proses lisosom. Hal ini juga disebut sebagai garis pertahanan kedua (*immune elimination*) untuk memindahkan antigen yang telah terpenetrasi dalam mukosa. *Peyer's patches*, sangat penting perannya dalam mendeterminasi respon imun terhadap antigen yang ada, hal ini juga diatasi oleh sel-sel M. Pada umumnya, transpor antigen menembus epitel dicirikan dengan *uptake* dan penghambatan degradasi yang cepat. Antigen dipresentasikan terhadap sel-sel T, kemudian dipecah menjadi beragam sel-sel efektor yang memediasi aktivasi supresi imun dan memicu pembentukan IgA yang disekresi oleh sel-sel B. Sebagai hasil proses absorpsi menembus mukosa intestin, antigen yang masuk diubah menjadi bentuk tolerogenik seperti ditunjukkan dengan Gambar 2 .

Toleransi oral

Telah didapatkan bahwa terdapat beberapa faktor yang dapat berperan dalam pengembangan respon imun sel T. Faktor-faktor tersebut adalah tipe antigen, rute masuknya antigen, dan jumlah antigen yang masuk. Terciptanya toleransi terhadap antigen yang masuk secara oral juga sangat dipengaruhi oleh usia inang dan waktu terjadinya aktivasi. Saat terjadi paparan antigen, sel-sel imun merespon dengan mengeluarkan sitokin yang memicu respon imun. Data pengamatan menunjukkan bahwa sel-sel T_h-1 dan T_h-2 memproduksi sitokin sehingga menghasilkan respon imun yang beragam terhadap antigen yang ada. Interleukin 4 (IL-4) berperan



Gambar 2. Mekanisme Toleransi Oral dalam Hubungannya dengan Antigen

dalam pengembangan fenotip T_h -2 yang memicu produksi IgE, *eosinophilia*, dan *atopic disease*. Sel-sel T_h -1 bertanggungjawab langsung terhadap respon imun yang dimediasi oleh sel terhadap patogen intrasel. Pada inang yang sehat, keseimbangan dan pengawasan antara pertahanan imunitas mukosa mencakup respon imun terhadap antigen dengan hiporespon sistemik terhadap antigen yang simultan seperti makanan adalah hal yang sangat penting.

Toleransi oral merupakan hiporespon terhadap antigen enterik. Studi pada hewan coba menunjukkan bahwa dosis dan frekuensi antigen yang diberikan berpengaruh terhadap toleransi yang diinginkan. Pemberian antigen dosis tinggi mengakibatkan *clonal deletion* atau anergi, sedangkan dosis rendah mengakibatkan

supresi aktif, sesaat induksi peran sel T di dalam Peyer's patches (Gambar 2). Fungsi pengaturan sel T adalah melalui produksi sitokin suppresif, termasuk IL-4, IL-10 dan TGF- β *Clonal deletion* atau anergi disertai dengan produksi lokal IL-12, interferon- γ , dan apoptosis sel T_h-1. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa salah satu mekanisme bagaimana GALT menjaga terjadinya homeostasis adalah melalui pengaturan sitokin lokal, khususnya *Transforming Growth Factor β* (TGF- β) yang berhubungan dengan toleran.

Tidak semua antigen intraluminal menginduksi toleransi oral. Antigen bakteri intraluminal memicu munculnya respon positif pada jaringan GALT. Hal ini dapat dijelaskan dengan adanya kemampuan pengikatan antigen bakteri tersebut terhadap sel-sel epitel, sehingga memungkinkan masuknya antigen melalui enterosit dan menghasilkan induksi toleran dalam Peyer's patches. Respon imun pada jaringan GALT semacam ini dapat mengontrol aktivitas metabolik dan keseimbangan mikroflora. Adesi antigen terhadap sel epitel yang kuat berhubungan dengan peningkatan respon imun pencernaan. Demikian juga, pada individu yang sehat terjadi toleransi terhadap mikrofloranya, toleransi semacam ini tidak terjadi pada individu yang mengalami inflamasi.

Sensitivitas terhadap alergi

Pada bayi pengaturan respon imun lebih cenderung menginduksi sensitivitas dibandingkan toleransi oral. Mekanisme penolakan antigen, eliminasi antigen dan pengaturan sistem imun belum sempurna pada masa setelah lahir. Hal ini juga berpengaruh terhadap terjadinya kelainan dalam penanganan antigen tersebut di dalam saluran pencernaan. Belum dewasanya sistem proteksi imun ini terlihat dari kurang mampunya sel-sel penghasil IgA untuk menghasilkan IgA, di samping juga belum berfungsinya sel T secara optimal. Pada bayi yang baru lahir, profil sitokinnya terpolarisasi menjauhi imunitas yang dimediasi sel dibandingkan

imunitas humoral. Keberadaan sel-sel yang menghasilkan IL-4 pada masa-masa kritis kemungkinan mengarahkan memori sel T imun menuju fenotif sel T_h-2 sehingga meningkatkan produksi IgE dan juga sensitivitas atopik. Belum dewasanya pertahanan saluran pencernaan kemungkinan berakibat pada ketidaknormalan transfer antigen dan respon imun. Kurangnya produksi sitokin antiinflamasi TGF- β oleh limfosit pada bayi menunjukkan terjadi sensitivitas oleh antigen enterik pada dosis rendah. Pada usia dini, antigen semacam ini biasanya berasal dari makanan dan reaksi alergi terhadap makanan tersebut.

Pada kasus inflamasi, kecepatan, rute, dan cara presentasi antigen dapat berakibat terjadinya penundaan toleransi oral. Permeabilitas saluran pencernaan dapat meningkat akibat terjadinya inflamasi pada mukosa intestin yang dipicu virus, bakteri, atau antigen yang masuk bersamaan dengan makanan. Jumlah antigen yang terlalu banyak akan dapat menembus *mucosal barrier*, demikian juga hal ini dapat dipengaruhi oleh rute transpor. Saat terjadi disfungsi mukosal akibat belum dewasa, infeksi atau reaksi hipersensitivitas akan terjadi penanganan antigen yang tidak normal atau tidak seperti biasanya. Hal ini dapat memicu terjadinya kelainan respon imun sehingga terjadi sensitivitas. Data ini berimplikasi bahwa respon alergi terhadap antigen pada makanan disebabkan oleh kegagalan GALT untuk mencapai atau menjaga toleransi oral terhadap antigen tersebut.

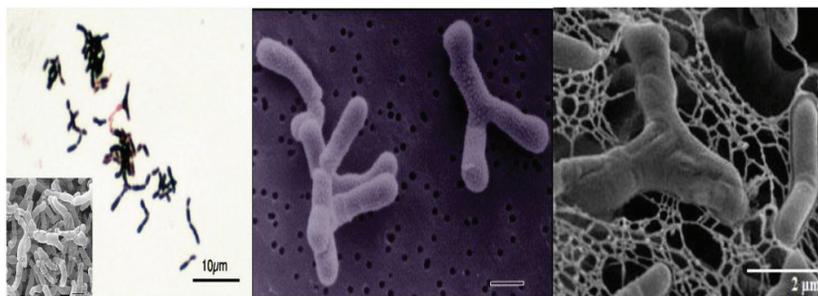
Bifidobacteria dalam Perspektif Umum



Gambaran Morfologi

B*ifidobacteria* pertama kali diisolasi pada tahun 1889, oleh Tissier seorang peneliti dari Pasteur Institute Perancis. Didapatkan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri yang bersifat anaerob, gram-positif, tidak membentuk spora, berbentuk batang *pleomorphic* dan awalnya diberi nama *Bacillus bifidus communis*. Pada mulanya bakteri ini dimasukkan dalam satu genus dengan *Lactobacillus* diberi nama *L. Bifidus*. Pada tahun 1960, bakteri ini diterima secara luas sebagai bakteri yang termasuk genus tersendiri dikenal sebagai *Bifidobacteria*. Selain sifat-sifatnya yang telah diuraikan di atas, kekhasan fenotip *Bifidobacteria* adalah dapat mengubah glukosa menghasilkan asam laktat dan asam asetat, dengan komposisi guanin dan sitosin DNA-nya antara 54 % dan 67 % per molekul, dan merupakan mikroorganisme yang sakarolitik. *Bifidobacteria* ditemukan mendominasi saluran usus bayi yang diberi ASI, berbentuk seperti huruf Y dan V seperti ditunjukkan pada Gambar 3.

Bifidobacteria dalam saluran pencernaan dapat memfermentasi gula menghasilkan asam laktat. Genom *B. longum* menunjukkan adanya protein spesifik yang dapat mengkatabolisme oligosakarida. Bakteri ini juga mampu sebagai agen *nondigestible*



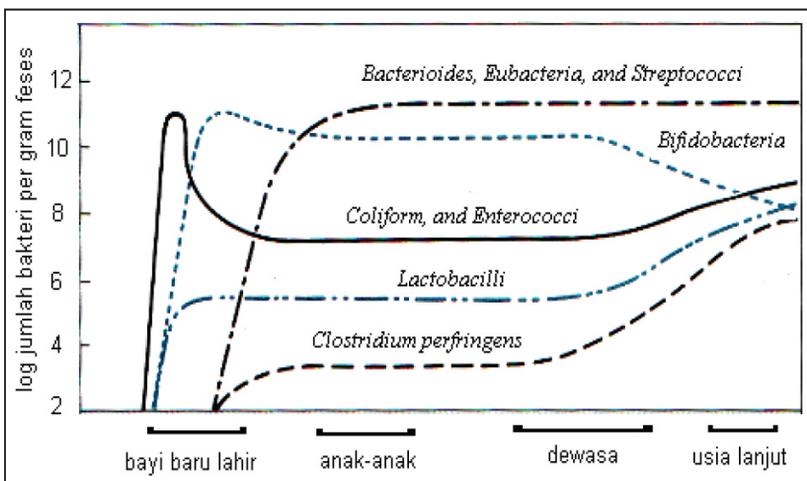
Gambar 3. Poto mikroskop elektron morfologi *Bifidobacteria* dimana memiliki ciri khas berbentuk batang pendek menyerupai huruf Y atau V. (Modler, 2006)

yang dapat mendegradasi polimer atau glikoprotein dan konyugasinya. Dengan kemampuannya ini menyebabkan *Bifidobacteria* dapat berkompetisi dengan bakteri lain dalam saluran pencernaan, sehingga persentase keberadaannya di dalam mikroflora saluran pencernaan sangat tinggi. Hal ini akibat dari *Bifidobacteria* dapat mengubah banyak molekul menjadi sumber nutrisi untuk dapat bertahan hidup.

Ekologi

Semasih di dalam kandungan, bayi bebas dari *germ* ataupun bakteri saluran pencernaan. Menjelang lahir mulai dijumpai adanya bakteri yang membentuk mikroflora saluran pencernaan. Setelah lahir, beragam spesies bakteri berkompetisi untuk dapat menempati saluran pencernaan, namun *Bifidobacteria* secara perlahan-lahan berkembang sehingga menjadi bakteri utama penghuni saluran pencernaan. Peningkatan jumlah *Bifidobacteria* tampak lebih jelas pada bayi yang mendapatkan air susu ibu, mencapai lebih dari 95% dari mikroflora saluran pencernaan. Peningkatan daya tahan bayi yang mendapat ASI terhadap infeksi juga sebagai akibat adanya peran *Bifidobacteria* dalam mikroflora saluran pencernaan.

Jumlah *Bifidobacteria* pada bayi yang tidak diberi susu ibu adalah lebih rendah dibandingkan dengan bayi yang diberi ASI. Sekalipun demikian, pada bayi yang diberi susu botolpun *Bifidobacteria* masih merupakan bakteri yang dominan di dalam GIT. *Bifidobacteria* yang dominan pada bayi secara perlahan-lahan menurun manakala bayi tidak lagi mendapatkan ASI. Selanjutnya bakteri lain, seperti *Bacteroides* dan *Eubacterium* menjadi dominan. Perubahan jumlah *Bifidobacteria* terhadap perjalanan usia ditunjukkan pada Gambar 4.

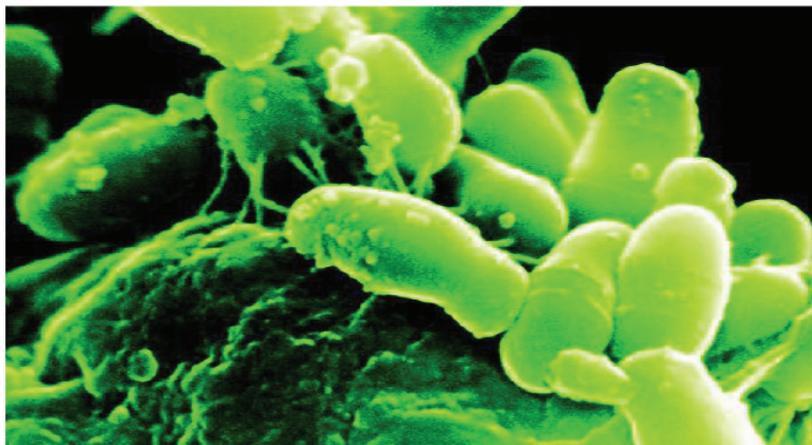


Gambar 4. Perubahan Jumlah *Bifidobacteria* terhadap Usia (Mitsuoka, 1978).

Pada orang dewasa *Bifidobacteria* merupakan komponen utama dan penting dalam sistem mikroflora saluran pencernaannya. Jumlah *Bifidobacteria* terus mengalami penurunan sejalan dengan perjalanan usia, dibarengi pula dengan peningkatan spesies *Clostridium* dan spesies-spesies lainnya seperti terlihat pada Gambar 5.

Bifidobacteria hidup di dalam saluran cerna manusia dan hewan bersama-sama dengan berbagai macam bakteri yang kebanyakan merupakan obligat anaerob seperti ditunjukkan

dengan Gambar 4. Sampai saat ini telah ditemukan lebih dari 7000 strain *Bifidobacteria* yang diisolasi dari habitat yang berbeda. Termasuk habitat feses bayi dan orang dewasa, vagina, dan karies gigi manusia, serta limbah, yogurt (*B. lactis*), demikian juga pada feses hewan. Di dapatkan ternyata adaptasi *Bifidobacteria* berbeda pada masing-masing habitat.



Gambar 5. *Bifidobacteria* di dalam epitel kolon yang mengalami penurunan sejalan dengan perjalanan usia,

Pada bayi yang mendapat ASI, *Bifidobacteria* mengisi hampir 90 % mikroflora saluran pencernaannya. Namun demikian, jumlah ini lebih rendah pada bayi yang diberi susu botol. Penggantian air susu ibu pada bayi yang menyusui dengan susu sapi atau makanan padat, mengakibatkan jumlah *Bifidobacteria* menurun sejalan dengan peningkatan jumlah bakteri lain, seperti *Bacteroides* dan *Streptococci lactobacilli*.

Fisiologi *Bifidobacteria*

Temperatur optimum, pH dan sensitivitas terhadap oksigen

Temperatur optimum untuk pertumbuhan adalah 37- 41 °C, dan *Bifidobacteria* tidak dapat tumbuh pada suhu < 20 °C ataupun

> 46 °C. Ada *Bifidobacteria* yang dapat tumbuh pada temperatur 45 °C, ini untuk membedakan antara yang berasal dari hewan dan manusia. Dilaporkan pula bahwa *Bifidobacteria thermocidophilus* dapat tumbuh pada kondisi termofilik yaitu pada temperatur sekitar 50 °C.

Bifidobacteria merupakan mikroorganisme yang toleran terhadap asam. pH optimum untuk dapat bertahan hidup adalah antara 6,5 dan 7,0. Tidak ada *Bifidobacteria* yang dapat tumbuh pada pH < 4,5 dan > 8,5. *Bifidobacteria* bersifat anaerob, namun sensitivitasnya terhadap perubahan oksigen sangat bergantung pada spesies dan strain yang berbeda pada masing-masing spesies.

Metabolisme heksosa

Bifidobacteria mempunyai kemampuan metabolisme heksosa yang unik, melalui *phosphoketolase pathway*. Cara metabolisme ini lebih dikenal sebagai *bifid shunt*, dengan memanfaatkan enzim *fructose-6-phosphate phosphoketolase* (F6PPK). Adanya enzim tersebut juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan *Bifidobacteria*, karena enzim ini tidak ditemukan pada bakteri gram positif lainnya pada saluran pencernaan.

Enzim F6PPK mengubah fosfat heksosa menjadi eritrosa-4-fosfat dan asetil fosfat. Dari tetrosa dan heksosa fosfat melalui reaksi transaldolase dan transketolase akan dihasilkan pentosa fosfat, melalui proses disosiasi akan menghasilkan peningkatan asam laktat dan asam asetat, secara teoritis dengan perbandingan 1:1,5. Terbentuknya asam format dan etanol dapat mengganggu keseimbangan reaksi metabolisme tersebut di atas.

Struktur dinding sel

Struktur dinding sel *Bifidobacteria* sesuai tipe struktur dinding sel bakteri gram positif, tersusun dari pembungkus tipis (*envelope*) yang

mengandung polisakarida, protein dan *teichoic acids*. Komposisi asam amino polisakaridanya adalah L-alanine, D-glutamic acid, L-ornithine dan D-alanine, terkadang ornithin disubstitusikan oleh lisin pada beberapa strain. Polisakaridanya terdiri dari glukosa dan galaktosa serta terkadang ramnosa yang merupakan penyusun dinding sel. Polisakarida yang teramati dari dinding sel *B. longum* dan *B. catenulatum*, setelah proses *N-acetylmuramidase* adalah peptidoglikan yang berikatan secara kovalen melalui ikatan fosfodiester. Polisakarida yang disekresikan tersebut mempunyai struktur subunit glukosa, galaktosa, dan sejumlah kecil *uronic acids* dan heksosamin. *Lipoteichoic acids* yang terbentuk pada *bifidobacteria* berikatan dengan rantai polisakarida merupakan materi yang penting untuk adesi sel terhadap dinding pencernaan. Studi *Immunochemical* menunjukkan bahwa *lipoteichoic acids* merupakan antigen utama *Bifidobacteria*, protein dan *lipoteichoic acids* ini juga sebagai penciri hidropobik permukaan *Bifidobacteria*.

Aktivitas antagonis

Seperti telah diketahui bahwa peran penting *Bifidobacteria* adalah menjaga keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan. Sebuah studi yang dilakukan oleh Saavendra dkk tahun 1994 melaporkan bahwa bayi yang mendapatkan ASI ataupun susu formula bayi yang mengandung *B. bifidum* dan *S. thermophilus*, hampir tidak terkena diare dibandingkan dengan bayi yang tidak mendapatkan ASI ataupun susu formula tanpa *Bifidobacteria*. Hal serupa juga didapatkan pada mencit yang mendapatkan susu dilengkapi dengan *B. bifidum*. Pemberian susu segar yang mengandung *B. adolescentis* pada 8 orang sukarelawan menghasilkan perubahan populasi mikroba pada feses mereka yaitu terjadi peningkatan *Bifidobacteria* dan hambatan terhadap pertumbuhan *Coliform* oleh penelitian yang dilakukan oleh Khedkar dkk sebelumnya. Telah dilaporkan terjadi efek antagonis *Bifidobacteria* terhadap beragam patogen termasuk *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*

dan *Yersinia enterocolitica*. Mekanisme inhibisinya berkaitan dengan dihasilkannya asam asetat dan asam laktat. Demikian juga beberapa spesies dapat menghasilkan senyawa antimikroba atau bakteriosin dengan aktivitas dapat melawan bakteri gram positif dan gram negatif. Penelitian yang dilakukan oleh Gibson dan Wang melaporkan tentang aktivitas antibakteri strain *Bifidobacteria* melawan *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter*, *Shigella* dan *Vibrio cholerae*, dimana aktivitas ini penting dalam melindungi inang terhadap *gastroenteritis*. Sedangkan studi lain oleh Meghrouk dkk untuk pertama kali membuktikan bahwa *Bifidobacteria* mampu menghasilkan senyawa antimikroba yang bersifat sebagai bakteriosin. Sebanyak 13 strain kultur *Bifidobacteria* diuji kemampuannya melawan beberapa organisme. Salah satu strain bahkan didapatkan menghasilkan protein yang stabil terhadap panas dan reaktif pada pH 2 - 10 melawan bakteri gram positif, seperti beberapa spesies: *Bifidobacteria*; *Lactococcus*; *Clostridium* dan *Lactobacillus*, tetapi tidak reaktif terhadap bakteri gram negatif seperti: *Pseudomonas*; *Klebsiella*; *Serratia* dan *Escherichia coli*. Penelitian yang dilakukan oleh Yildirim dan Johnson telah mendapatkan suatu bakteriosin yang diberi nama *bifidocin B* dari *Bifidobacteria bifidum* NCBFB 1454. *Bifidocin B* ini sensitif terhadap enzim-enzim proteolitik, reaktif pada pH 2 - 10, tahan terhadap panas dan pelarut organik, dan dihasilkan terbanyak pada fase stasioner bakteri tersebut. Bakteriosin ini ternyata aktif terhadap beberapa spesies seperti: *Listeria*; *Bacillus*; *Enterococcus*; *Lactobacillus*; *Leuconostoc* dan *Pediococcus*.

Kerentanan terhadap antibiotik

Walaupun penelitian mengenai peran *Bifidobacteria* di dalam ekologi saluran pencernaan telah banyak dilakukan, masih sedikit riset mengenai resistensi bakteri tersebut terhadap antibiotika. Resistansi *Bifidobacteria* terhadap antibiotika, seperti *kanamycin*, *neomicyn*, *nalidixic acid*, *polymixin B*, *gentamicin*, *streptomycin*

dan *metronidazole*, merupakan kekhasan dari bakteri tersebut, kemungkinan akibat pengkodean kromosomnya, namun mekanisme resistansi tersebut belum diketahui dengan jelas. Penelitian oleh Charteris dkk tahun 1998 melaporkan mengenai profil resistansi *Bifidobacteria*. Kerentanan *Bifidobacteria* terhadap *ampicillin*, *penicillin G*, *erythromycin*, *cephalosporin*, *bacitracin*, *chloramphenicol*, *clindamycin*, *nitrofurantoin* dan *tetracycline* teramati pada semua strain yang diuji. Namun, strain yang diujikan ini resistan terhadap *vancomycin*, *fusidic acid*, *trimethoprim*, *norfloxacin*, *metronidazol* dan *colistin*. Demikian juga, studi sebelumnya oleh Rada dan Dlebal menunjukkan bahwa sebanyak 17 strain *Bifidobacteria* yang diisolasi dari feses bayi dan susu terfermentasi komersial sensitif terhadap *nisin*; dengan konsentrasi minimal untuk hambatan didapatkan pada rentangan 4,88 – 10,00 IU/ml.

Kebutuhan Nutrisi

Aspek kebutuhan nutrisi mencakup nitrogen, vitamin, *growth factors* dan logam-logam oleh *Bifidobacteria*, telah banyak diteliti. *N-acetylglucosamine* dan disakarida, serta *N-acetyllactosamine*, merupakan komponen penyusun susu dan ditemukan sebagai stimulan pertumbuhan *Bifidobacteria*. *Bifidobacteria* bila dibiakkan dalam kultur media dengan *N-acetylglucosamine* berlebih, maka sel-sel bakteri tersebut bentuknya lebih seragam. Jadi terbentuknya sel yang tidak seragam adalah sebagai akibat kurangnya konsentrasi *N-acetylglucosamine*, yang berperan sebagai prekursor biosintesis peptidoglikan. Peran penting faktor-faktor bifidogenik telah banyak diteliti oleh Modler dimana didapatkan bahwa proliferasi *Bifidobacteria* pada saluran pencernaan bagian bawah bayi sesaat setelah lahir distimuli oleh glikoprotein κ -kasein yang terkandung dalam kolostrum ibunya ataupun dalam jumlah kecil didapatkan pada ASI. Sejalan dengan pertambahan umur, intake faktor-faktor bifidogenik yang berasal dari diet berpengaruh

terhadap spesies dan jumlah *Bifidobacteria* penghuni saluran pencernaan. Ditemukan juga bahwa *Lactulose* sangat efektif dalam pertumbuhan *Bifidobacteria* sehingga banyak ditambahkan pada produk-produk makanan terutama susu yang dapat berperan sebagai faktor bifidogenik atau bahan tambahan yang berperan dalam pengaturan pencernaan pada saluran pencernaan. Efek *lactulose* terhadap pertumbuhan *Bifidobacteria* dipelajari oleh Terada dkk dimana didapatkan bahwa pemberian *lactulose* 3 g per hari selama 2 minggu, meningkatkan *Bifidobacteria* sebanyak 4%. *Lactulose* dimanfaatkan oleh *Bifidobacteria* dalam metabolisme menghasilkan asam-asam organik sehingga menurunkan pH saluran pencernaan. Di samping itu juga *lactulose* sangat berperan dalam stimulasi pertumbuhan *Bifidobacteria* sehingga menghasilkan sel-sel bakteri tersebut ada yang berbentuk “Y” ataupun “V”.

Imunomodulasi *Bifidobacteria*

Seperti telah diuraikan di atas mikroflora saluran pencernaan dihuni oleh beragam spesies bakteri yang berbeda, beberapa di antaranya ada yang menguntungkan atau disebut probiotik berperan dalam mencegah kolonisasi patogen dan menjaga imunitas mukosa pada saluran pencernaan. Mikrobiota dalam saluran pencernaan lebih banyak menghuni usus besar, densitasnya mencapai 10^{11} organisme/g kandungan intestinal. Ini berarti mikroflora didominasi oleh sel-sel eukariot, namun dalam kondisi normal hal ini tidak berdampak negatif terhadap inang.

Peran mikroflora asli dalam fungsi sistem imun mukosa dan kesehatan saluran pencernaan telah banyak dikaji oleh para peneliti. Sebenarnya terjadi dialog antara mikroorganisme komensal dengan sistem imun mukosa. Dialog ini menghasilkan respon yang berbeda-beda terhadap mikroorganisme komensal dan patogen. Bakteri komensal memiliki pola molekul yang serupa dengan *toll-like receptors* (TLRs) sehingga dapat dikenali, tidak demikian halnya

terhadap patogen. Sistem imun mukosa membiarkan persistensi bakteri komensal serta tidak dipengaruhi oleh adanya toleransi imunologi, sehingga juga berperan dalam menjaga *intestinal homeostasis*. Dewasa ini, telah diterima suatu konsep bahwa toleransi oral tidak ditimbulkan akibat adanya bakteri komensal, namun karena inang mengabaikan atau dapat mengenali bakteri tersebut. Inang yang sehat mampu menciptakan respon imun yang baik terhadap antigen luminal dan menjaga *physiological state of inflammation* dalam saluran pencernaan, di samping juga mampu merespon invasi organisme komensal atau patogen. Pada inang yang sehat penetrasi bakteri komensal juga dihambat oleh lapisan epitel intestin dan sel-sel imun mukosa, yang mempunyai sifat dapat beradaptasi dengan keberadaan mikrobiota asli. Sinyal yang dilepaskan oleh bakteri ini mencegah penetrasi mereka dan menahannya tetap berada di permukaan saluran pencernaan. Bila mikroorganisme komensal ini menyerang jaringan inang, maka imunitas innate akan bekerja membersihkannya. Sedangkan, bila patogen menyerang intestin maka imunitas adaptif dan innate secara bersamaan merespon sinyal dari bakteri patogen tersebut. Walaupun jaringan epitel mukosa membentuk lapisan pelindung yang sangat efisien dalam mencegah masuknya patogen dari lingkungannya ataupun antigen eksternal ke bagian dalam sistem inang, pada bagian-bagian tertentu dapat diserang oleh patogen. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk dapat memahami immunomodulasi sistem pencernaan oleh bakteri patogen, namun tidak mencakup mekanisme modulasi sistem imun pencernaan oleh bakteri komensal dan juga oleh mikroorganisme nonpatogen yang ada dalam makanan yang dikonsumsi.

Respon Imun yang diinduksi oleh *Bifidobacteria*

Dalam melakukan fungsinya sistem imun mukosa pencernaan memerlukan jalinan sinyal dengan melibatkan banyak interaksi antara antigen komensal dan antigen asing dengan sel-sel eukariot.

Sel-sel ini mencakup sel-sel epitel, makrofag, sel dendrit dan sel-sel lainnya yang tergolong pertahanan nonspesifik, sel-sel yang memproduksi mukus seperti sel-sel goblet dan sel-sel Paneth yang mensekresikan antimikroba berupa peptida dan menghasilkan kriptidin atau defensin. Sel-sel epitel mukosa sangat berperan dalam mengkoordinasikan mekanisme pertahanan. Sel-sel ini merespon sinyal dari lingkungannya dengan melepaskan kemokin dan sitokin yang memanfaatkan sel-sel imun baik melalui respon imun innate maupun adaptif. Pemanfaatan sel-sel imun ini sebaliknya dapat bereaksi pada sel-sel epitel tersebut, menstimuli pelepasan sitokin. Respon ini tidaklah dipicu oleh bakteri komensal yang tidak berbahaya di dalam pencernaan, demikian juga sel-sel epitel ini berperan dalam mengontrol respon inflamasi. Karakteristik yang khas dari antigen maupun patogen yang dapat larut akan mempengaruhi respon imun pencernaan termasuk cara bagaimana mereka dapat menginisiasi interaksi dengan sistem imun tersebut. Paling sedikit terdapat 3 rute uptake antigen yang berbeda, yaitu: melalui sel-sel dendrit; sel-sel M spesial dari *Peyer's patches*, dan sel M individual yang ditemukan pada vili epitelium. Anatomi sel-sel imun yang memberikan respon imun innate (makrofag dan sel-sel dendrit) dan cara bagaimana sel-sel tersebut merespon antigen adalah berperan sangat penting dalam menentukan respon yang terjadi. Dengan demikian, induksi respon imun dapat terjadi sebagai akibat *uptake* antigen melalui *transepithelial sampling* melibatkan sel-sel dendrit atau oleh sel-sel dendrit yang ada pada lamina propria pencernaan atau oleh sel-sel M dari *Peyer's patches* atau dari vili intestin.

Presentasi antigen dari flora luminal pada respon imun pencernaan yang diinduksi oleh bakteri komensal, menghasilkan IgA lokal dengan jumlah yang banyak, tetapi respon yang ditimbulkan tidaklah secara sistemik. IgA lokal ini spesifik terhadap patogen dan memerlukan interaksi antara pagosit sel-sel dendrit dengan sel-sel T dan B dari *Peyer's patches* terhadap *antigen-presenting*

cells (APC) di dalam *isolated lymphoid follicles* atau *mesenteric lymph nodes*.

Bifidobacteria agar dapat berperan dalam respon imun harus berinteraksi dengan sel-sel epitel dan sel-sel imun dalam pencernaan untuk memicu adanya jalinan antar sinyal-sinyal imun. Data menunjukkan bahwa peningkatan jumlah sel-sel yang dapat memproduksi IgA merupakan hal penting yang dapat terjadi akibat induksi oleh mikroorganisme probiotik termasuk *Bifidobacteria*. IgA⁺ yang diinduksi oleh sel-sel B di dalam Peyer's patches tersirkulasi melalui *mesenteric lymphatic nodes* menuju aliran darah melalui *thoracic duct* dan kembali ke *intestinal mucosa*. Sirkulasi yang serupa juga terjadi untuk sel-sel T. Mikroorganisme probiotik termasuk *Bifidobacteria* mampu meningkatkan siklus tersebut di atas. Di samping itu, teramati terjadinya induksi IgA oleh sel-sel T; sitokine *transforming growth factor* β (TGF- β), interleukin-4 (IL-4), IL-2, IL-6, dan IL-10 berperan secara bersinergi dari beragam sel T dan dapat memicu terjadinya perubahan ekspresi dari IgM menjadi IgA.

Data penelitian juga menunjukkan bahwa profil sitokin yang diinduksi oleh beberapa bakteri asam laktat adalah peningkatan *tumor necrosis factor*- α (TNF- α) dan *interferon*- γ (IFN- γ) dan pengaturan sitokin IL-10. Induksi TNF- α oleh bakteri probiotik adalah sangat penting untuk menginisiasi terjadinya *cross talk* antara sel-sel imun yang berhubungan dengan lamina propria dengan *intestinal epithelial cells*. IFN- γ juga berperan dalam pengaturan fisiologi, misalnya proses maturasi beberapa sel imun seperti sel-sel dendrit dan juga mengontrol proliferasi sel dalam saluran pencernaan.

Sel-sel epitel mukosa membentuk suatu pertahanan yang efisien yang dapat mencegah antigen dari lingkungan patogennya untuk dapat menginvasi inang. Mikroorganisme berflagela, termasuk bakteri komensal, dapat memicu respon kemokin homeostatik epitel dengan memanfaatkan sistem sel imun innate

dalam epithelium dan lamina propria saluran pencernaan sehingga terjadi sinergi antara respon imun innate ataupun adaptif. Data juga menunjukkan bahwa bakteri komensal dapat mengaktifkan sinyal TLR, walaupun posisi tepat reseptor ini di dalam sel-sel epitel intestin apakah pada bagian apikal dan atau basolateral masih menjadi perdebatan. Sinyal TLR penting tidak hanya dalam merespon adanya patogen tetapi juga penting dalam menjaga fungsi perlindungan intestin. Seperti telah dijelaskan di atas, agar dapat berperan maka bakteri probiotik termasuk *Bifidobacteria* haruslah dapat berinteraksi dengan sel-sel epitel intestin sehingga fragmen yang ditimbulkan dapat memicu dan mengaktifkan sel-sel epitel tersebut. Data juga menunjukkan bahwa interaksi ini dapat menginduksi pelepasan IL-6 dan IL-10. Pada interaksi dan induksi ini sebenarnya yang berperan adalah TLR.

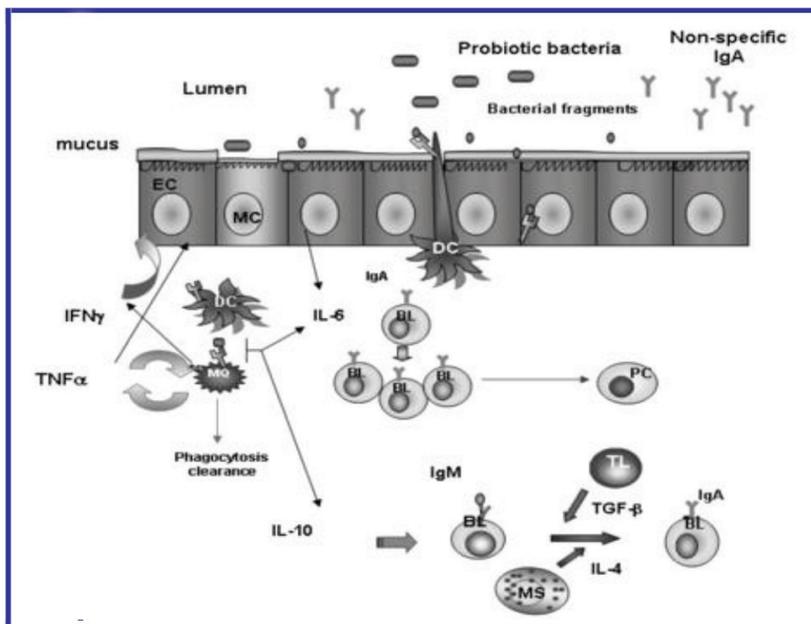
Data penelitian juga menunjukkan bahwa bakteri probiotik termasuk *Bifidobacteria* juga dapat berperan melalui sel-sel M di dalam Peyer's patches atau villi atau yang dikenali oleh sel-sel dendrit secara menyeluruh atau hanya fragmen antigenya saja. Sinyal-sinyal ini kemudian ditangkap oleh sel-sel dendrit lainnya ataupun makrofag yang berhubungan dengan lamina propria untuk meningkatkan sinyal tersebut terhadap sel-sel epitel dan atau sel-sel imun. Uptake bakteri nonpatogen oleh makrofag atau sel-sel dendrit dalam lamina propria dapat dibuktikan secara ilmiah dengan cara sampling langsung antigen luminal terhadap sel-sel dendrit melalui TLRs dan reseptor CD-206 mannose. Bakteri-bakteri nonpatogen ini dapat dihilangkan atau dialihkan menuju *mesenteric lymph nodes*, dimana di sini terjadi interaksi dengan sel T dan B untuk menginduksi terbentuknya IgA mukosa yang spesifik atau *suppress T cells*. Hal ini dapat dibuktikan dengan cara menggunakan bakteri probiotik yang dilabel menggunakan fluoresein isotiosianat yang dilakukan pada tikus coba. Didapatkan adanya sel-sel berfluoresensi pada tempat-tempat yang berbeda di Peyer's patches, villi lamina propria dan *large intestine nodules*.

Cara masuknya bakteri menuju villi kemungkinan melalui sel-sel M yang ada pada villi.

Mekanisme Respon Imun yang diinduksi oleh *Bifidobacteria*

Bifidobacteria dalam perannya untuk dapat menginduksi respon imun harus berinteraksi terlebih dahulu dengan sel-sel epitel, khususnya sel-sel imun inate yang kemudian memperkuat pertahanan. Bila *Bifidobacteria* berinteraksi dengan sel-sel Peyer's patches dapat menginduksi peningkatan siklus IgA. Terdapat 4 hal penting yang berperan dalam induksi respon imun pencernaan oleh bakteri probiotik termasuk *Bifidobacteria*, yaitu: (i) interaksinya dengan epitel; (ii) *pathway of internalization* bakteri di dalam saluran pencernaan; (iii) induksi sinyal pada sel-sel imun pencernaan untuk memicu peningkatan produksi sitokin dan jumlah sel-sel yang menghasilkan; dan (iv) peningkatan sel-sel penghasil IgA ditempat-tempat mukosa lainnya, seperti *bronchus* dan *mammary glands*. Dari hal tersebut dapat diusulkan mekanisme induksi respon imun oleh bakteri probiotik termasuk *bifidobacteria* seperti yang ditunjukkan pada Gambar 6.

Dari Gambar 6 terlihat terjadinya respon imun lokal pada pencernaan diinduksi oleh adanya interaksi antara bakteri probiotik termasuk *Bifidobacteria* dengan epitel dan sel-sel imun dalam lamina propria usus halus (*small intestine*). Gambar 6 juga menunjukkan terjadinya pengaktifan respon imun inate. Peran bakteri probiotik dalam menginduksi respon imun pada lumen usus halus dapat melalui beberapa jalan, yaitu: melalui sel M (MC) epitel, sel-sel epitel (EC) dan *interdigitant dendritic cells* (DC). Setelah interaksi dengan sel-sel epitel, bakteri probiotik ataupun fragmennya berada pada sel-sel epitel tersebut. Sel yang pertama berinteraksi adalah *antigen-presenting cells* (APC), makrofag, dan/atau sel-sel dendrit di dalam lamina propria saluran pencernaan. Interaksinya dengan sel-sel epitel menginduksi pelepasan IL-6. Makrofag dan sel-sel

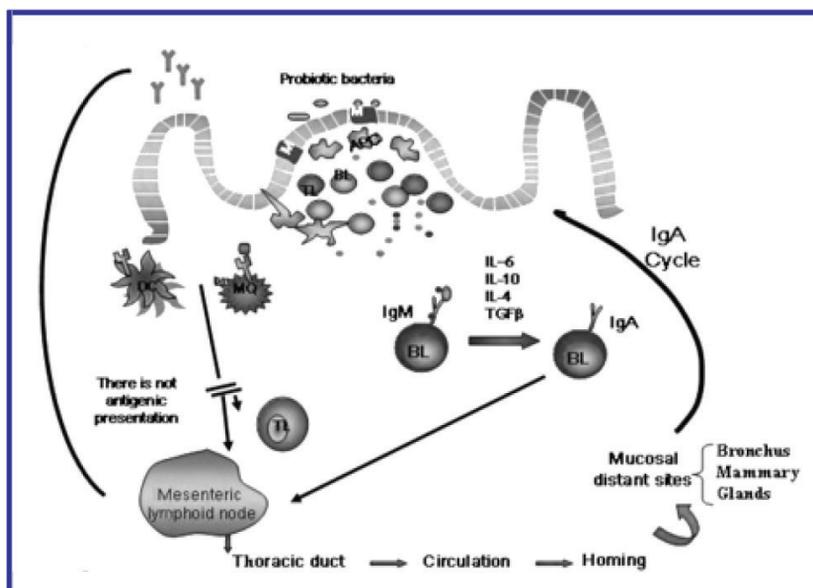


Gambar 6. Mekanisme Induksi Respon Imun Pencernaan oleh Bakteri Probiotik termasuk *Bifidobacteria* (EC=intestinal epithelial cells; MQ=macrophages; TL=lymphocytes; BL=B lymphocytes; MS=mast cells; PC=plasma cells).

dendrit memfagositosis bakteri probiotik ataupun fragmennya dan keduanya ini diinduksi untuk memproduksi sitokin seperti $\text{TNF-}\alpha$ dan $\text{IFN-}\gamma$, yang dapat meningkatkan stimulasi sel epitel dan menginisiasi *cross talk* antara semua sel-sel imun. Sel-sel mast juga distimuli untuk memproduksi IL-4. Dihasilkannya sitokin-sitokin seperti, IL-10 dan IL-6 adalah untuk menstimuli terjadinya *cytokine network of signals*.

Respon imun sistemik yang diinduksi bakteri probiotik juga terjadi pada sel-sel imun Peyer's patches. Mekanisme induksinya disajikan pada Gambar 7. Pada Peyer's patches, bakteri probiotik ataupun fragmennya direspon oleh sel-sel M atau melalui *paracellular way* melewati folikel sel-sel epitel Peyer's patches. Selanjutnya, bakteri atau partikelnya berinteraksi dengan makrofag

atau sel-sel dendrit yang diaktifkan menghasilkan sitokin. Stimuli bakteri terhadap sel-sel imun untuk dihasilkan suatu respon imun akan memicu dihasilkannya sitokin, demikian juga terjadi pengalihan (*switch*) sel-sel B. IL-10, IL-6, IL-4, dan TGF- β dari sel-sel imun juga dapat memicu pengalihan sel T independen ini. Stimuli probiotik dapat menginduksi siklus IgA, meningkatkan jumlah sel-sel IgA⁺ di bagian mukosa di daerah pencernaan. Sel-sel IgA⁺ bermigrasi ke *mesenteric lymphoid node* dan kemudian melalui *thoracic duct* menuju sirkulasi yang akhirnya sampai di *bronchus* dan *mammary glands*. Sitokin yang dilepaskan akibat stimuli probiotik di dalam Peyer's patches merupakan *biological messengers* jalinan sinyal yang kompleks yang dapat mengaktifkan respon imun sistemik.



Gambar 7. Mekanisme Induksi Respon Imun oleh Bakteri Probiotik dalam Peyer's patches (DC=sel-sel dendrit; MQ=makrofag; APC=antigen-presenting cells; TL=limfosit T; BL=limfosit B).

Aspek In Vitro Probiotik *Bifidobacteria* terhadap Adesi pada *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)



Perlu diketahui bahwa *enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) merupakan salah satu penyebab diareha pada bayi. Saluran pencernaan/*gastrointestinal tract* (GIT) adalah reservoir E. coli yang mampu berpindah menyeberangi mukosa usus. Didapatkan juga, bahwa *Clostridium difficile* (*C. difficile*) bakteri gram-positif merupakan penyebab infeksi diareha pada pasien-pasien diareha di Rumah Sakit. Adesi bakteri pada epitel usus merupakan prasarat terjadinya kolonisasi dan infeksi saluran pencernaan oleh bakteri patogen. Epitel usus merupakan tempat utama terjadinya kontak antara patogen dengan sel-sel inang dan berperan dalam *cross-talk* antara sel-sel epitel, luminal mikroorganisme dan sel-sel imun. Sehingga, penghambatan adesi bakteri ini pada permukaan usus dapat mencegah berpindahnya enteropatogen menuju mukosa usus.

Bifidobacteria merupakan bakteri penghuni utama mikroflora saluran pencernaan. Keberadaan *bifidobacteria* di dalam saluran pencernaan manusia memberikan dampak terhadap kesehatan. Adesi *bifidobacteria* pada mukus usus dipandang

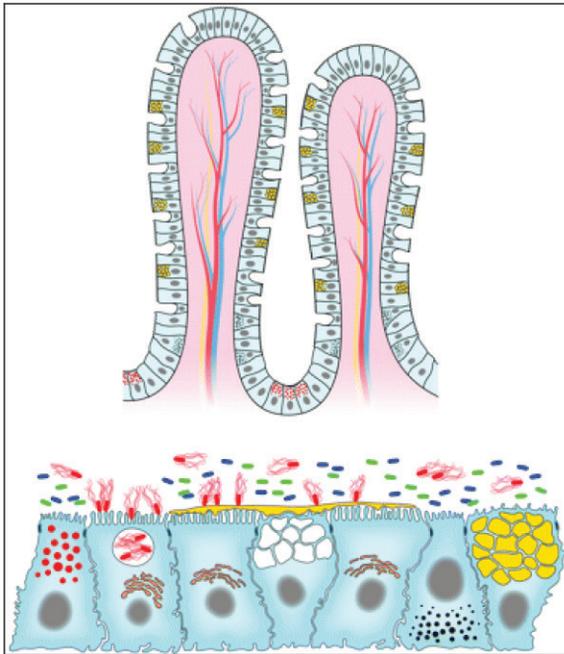
sebagai suatu prasarat terjadinya kolonisasi, aktivitas antagonis melawan patogen enterik (*enteropathogens*), memodulasi sistem imun. Didapatkan pula bahwa sifat adesi pada mukosa suatu bakteri dapat digunakan untuk menentukan apakah bakteri tersebut dapat digunakan sebagai “probiotik”. Penelitian selanjutnya difokuskan pada efek anti-infeksi khususnya aktivitas hambatan patogen enterik pada manusia. Studi yang dilakukan sebelumnya oleh Bernet dkk mendapatkan bahwa mekanisme adesi *bifidobacteria* pada sel-sel saluran pencernaan manusia adalah melibatkan komponen protein. Hal ini didukung oleh penemuan Fujiwara dkk tahun 1997 dan 1999 yang menunjukkan bahwa *Bifidobacterium longum* SBT2928 menghasilkan faktor protein yang mencegah pengikatan ETEC pada reseptor *gangliotetraosylceramide* (GA1). Sedangkan Zheng dkk berhasil mengekstrak dan memurnikan protein dengan berat molekul 16 ku dari *Bifidobacterium adolescentis* 1027 (B. ado 1027).

Adesi EPEC pada GIT

Permukaan mukosa GIT merupakan bagian tubuh terluas yang kontak dengan lingkungan luar, luasnya mencapai 200 - 300 m². Mukus ini merupakan ekosistem yang sangat kompleks terdiri atas epitel, sel-sel imun, dan mikrobiota alami yang menghuninya. Mukosa GIT ini terpapar oleh beragam mikroba patogen. Mikroorganisme enterik (EPEC) ini berpotensi membahayakan karena dapat menyerang molekul-molekul sel dan mempengaruhi sinyal-sinyal inang dan menjadi patogen. Langkah awal proses infeksi adalah EPEC melakukan adesi pada *brush border* sel-sel saluran pencernaan sehingga mereka mampu untuk mempengaruhi dan mengeksploitasi sinyal-sinyal yang ada. Lebih jauh lagi, beberapa EPEC mampu mengembangkan suatu sistem dimana setelah proses adesi ini akhirnya dapat mengeluarkan faktor-faktor virulensi. Setelah proses-proses alami sel inang terganggu mengakibatkan sistem yang diciptakan ini berperan

dalam penyusupan patogen untuk memasuki pertahanan epitel (*epithelial barrier*). Sitoskeleton inang biasanya dimanfaatkan oleh *enteric microbial pathogens* sebagai sarana saat penetrasi sel, atau dengan kata lain sitoskeleton ini dieksploitasi oleh patogen untuk bisa masuk ke dalam sel, bergerak dengan sel ataupun berpindah di antara sel-sel, membentuk atau mereposisi vakuola untuk membentuk suatu posisi sehingga patogen tersebut dapat berlingung untuk mempertahankan hidupnya.

Sebenarnya, inang terlindung dari serangan patogen oleh perlindungan fisika maupun kimia yang dibuat oleh epitel saluran pencernaan (Gambar 8).



Gambar 8. Gambaran arsitektur epitel melapisi saluran pencernaan

Pada Gambar 8 terlihat permukaan saluran pencernaan diselubungi oleh kolon epitel berlipat membentuk sejumlah *invaginations* atau *crypts* yang tertancap pada jaringan konektif

(*connective tissue*). Sel-sel saluran pencernaan yang menyusun epitel berperan sebagai *physical barrier* yang melindungi inang dari serangan mikroorganisme patogen.

Adesi patogen pada mukus saluran pencernaan merupakan prasarat untuk terjadi kolonisasi dan infeksi di dalam GIT, dan menentukan dalam terjadinya infasi, dan sekresi faktor-faktor penyebab infeksi. *Bifidobacteria* merupakan bakteri yang dominan menghuni mikroflora saluran pencernaan dan berperan dalam kesehatan manusia. Telah banyak penelitian yang menunjukkan bahwa beberapa strain *bifidobacteria* memiliki sifat anti-infeksi bakteri enteropatogen. Namun, ada hambatan manakala bakteri ini digunakan sebagai terapi mengatasi disfungsi pertahanan saluran pencernaan, antara lain bakteri ini agak sulit diproduksi dan perlindungan untuk tahan lama agak rumit karena sulit menciptakan lingkungan maupun substrat pertumbuhan yang cocok. Penelitian sebelumnya oleh Bernet dkk dan Zheng dkk menemukan bahwa terjadinya adesi *bifidobacteria* pada sel-sel saluran pencernaan melalui suatu mekanisme adesi yang melibatkan suatu protein. Studi yang dilakukan oleh Fujiwara dkk juga melaporkan bahwa *bifidobacteria* strain SBT2928 menghasilkan suatu faktor protein disebut *binding inhibitory factor* (BIF) yang dapat mencegah adesi ETEC pada GA1 *in vitro*, dan adesi ETEC pada sel epitel HCT-8 terhambat dengan adanya BIF. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat komponen adhesin dalam *bifidobacteria*.

Studi sebelumnya oleh Shi-Zun dkk menggunakan stain gram dan *flow cytometry* untuk mempelajari kompetisi inhibisi adesi ETEC, EPEC dan *C. difficile* pada sel line Lovo saluran pencernaan terhadap adhesin B. ado 1027. Dari studi yang mereka lakukan didapatkan bahwa pada konsentrasi adhesin 10 µg/mL, 20 µg/mL and 30 µg/mL secara signifikan sudah dapat menghambat adesi ETEC, EPEC dan *C. difficile* pada sel line epitel Lovo. Dalam penelitiannya didapatkan bahwa adesi ETEC, EPEC dan *C. difficile* pada sel line Lovo menurun sejalan dengan peningkatan konsentrasi

adesin yang digunakan sampai pada konsentrasi maksimum yaitu 30 µg/mL tidak terjadi lagi penurunan yang signifikan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa adesi B. ado 1027 yang telah dimurnikan berperan pada adesi bakteri. Reseptor dan adesi merupakan hal yang sangat penting pada proses adesi. Salah satu mekanisme bagaimana bifidobacteria dapat memproteksi sel epitel adalah kompetisi dengan reseptor seperti hasil yang ditemukan oleh Madsen dkk sebelumnya. Hal ini sejalan dengan temuan Shi-Zun, dkk dimana adesi B. ado 1027 berfungsi memblokir tempat adesi (*binding site*) ETEC, EPEC dan *C. difficile* pada sel epitel pencernaan. Didapatkan pula bahwa adesi ETEC dan EPEC pada sel epitel pencernaan adalah linier, sedangkan adesi *C. difficile* menyerupai kluster. Ini menunjukkan bahwa bakteri yang berbeda memberikan distribusi yang berbeda pada reseptor di permukaan sel. Ini membuktikan bahwa adesi B. ado 1027 yang dimurnikan dapat menghambat adesi ETEC, EPEC dan *C. difficile* pada sel epitel pencernaan dengan efektif.

Studi oleh Moroni dkk tahun 2006 melakukan dua model uji in vitro untuk menguji kemampuan adesi terhadap saluran pencernaan dari 3 strain bifidobacteria yang diisolasi dari feses bayi. Model 1 menggunakan sel line kolon adenokarsinoma manusia Caco-2. Sel ini mewakili struktur dan fungsi sel enterosit yang sudah dewasa (*mature enterocytes*) in vitro. Model 2 menggunakan sel line HT-29 yang juga diturunkan dari kolon adenokarsinoma manusia. Sel ini serupa dengan sel yang digunakan pada model 1, tetapi bila dibiakan pada media yang mengandung glukosa tidak terjadi proliferasi sel lanjut. Sedangkan hasil penelitian oleh Moroni dkk menunjukkan bahwa terjadi adesi *B. thermophilum* subsp. *infantis* RBL67 dan *B. thermacidophilum* subsp. *suis* strain RBL68 dan RBL70 pada kedua sel line yang digunakan. Adesi bifidobacteria strain RBL67 dan RBL70 ditemukan lebih besar dibandingkan dengan adesi *B. bifidum* RBL71, yang telah dilaporkan sebelumnya sebagai bifidobacteria dengan daya adesi yang tinggi dan *B. pseudolongum* ATCC 25526

yang juga diemukan memiliki daya adesi tinggi. Sedangkan adesi *B. thermacidophilum* subsp. *suis* strain RBL68 ditemukan sebanding dengan adhesi *B. bifidum* RBL71. Ketiga strain bifidobacteria yang diuji ini tidak menginvasi sel epitel pencernaan, hal ini membuktikan ternyata genus *Bifidobacterium* merupakan bakteri non-invasi.

Seperti telah dilaporkan oleh Servin dan Coconnier, satu hal penting dari peran probiotik bifidobacteria pada kesehatan manusia adalah mencegah terjadinya infeksi patogen. Misalnya ditunjukkan dengan terjadinya infeksi oleh enteropatogen *L. monocytogenes* yang ditandai dengan adesi bakteri tersebut pada sel epitel pencernaan. Moroni dkk sebelumnya meneliti kemampuan ketiga strain bifidobacteria yang disebutkan di atas untuk memblokir adesi dan invasi tiga strain *L. monocytogenes*. Didapatkan bahwa ke-tiga strain bifidobacteria ini tidak dapat menghambat adesi *Listeria* ketika kedua organisme ini ditambahkan secara simultan. Bahkan diamati ternyata terjadi peningkatan adesi *Listeria* pada konsentrasi bifidobacteria tertinggi yang digunakan. Temuan ini berbeda dengan temuan Coconnier dkk tahun 1993 yang mendapatkan bahwa kompetisi penghambatan adesi *L. monocytogenes* dengan *Lactobacillus acidophilus* LB pada sel Caco-2 bergantung pada dosis. Pada penelitian mereka digunakan *Lactobacillus* hidup dan *heat-killed* dan didapatkan penghambatan masing-masing sebesar 75% dan 80%. Perbedaan hasil penelitian yang didapatkan ini kemungkinan akibat perbedaan waktu inkubasi yang digunakan. Penelitian oleh Moroni dkk sebelumnya menggunakan waktu inkubasi hanya 30 menit, sedangkan studi oleh Coconnier dkk menggunakan waktu inkubasi mencapai 60 menit. Akan tetapi, penelitian yang dilakukan oleh Coconnier dkk sebelumnya tidak menemukan adanya perbedaan pada penggunaan *Lactobacillus heat-killed* sebelum ditambahkan bakteri strain *Listeria*, sementara studi yang dilakukan oleh Moroni dkk menemukan terjadi stimulasi penghambatan adesi patogen bila menggunakan bifidobacteria hidup.

Penghambatan adesi patogen enterik lainnya oleh bifidobacteria atau *Lactobacillus* telah pula banyak dilaporkan. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Gagnon dkk tahun 2004 dimana menunjukkan bahwa strain *B. bifidum* yang diisolasi dari feses bayi menurunkan adesi *E. coli* O157:H7 pada sel Caco-2 sesuai dengan dosis yang digunakan. Peneliti lain menemukan penghambatan adesi patogen enterik seperti *E. coli*, *S. enterica* serovar *Typhimurium*, dan *Staphylococcus aureus*, oleh bifidobacteria yang juga bergantung pada dosis yang digunakan.

Walaupun strain bifidobacteria yang diuji pada penelitian Moroni dkk tahun 2006 tidak begitu efektif dalam menghambat adesi *L. monocytogenes* manakala kedua bakteri tersebut ditambahkan secara simultan, namun, terbukti efektif dalam memblokir invasi patogen terhadap sel-sel epitel. Didapatkan ternyata ketiga strain yang diuji ini mampu menghambat invasi patogen 35 - 90 % bergantung pula dengan cara penambahannya pada sel line. Hasil yang mengagetkan didapat manakala bifidobacteria ditambahkan 1 jam sebelum penambahan *Listeria*, tingkat penghambatan invasi patogen mencapai 100 % untuk semua strain yang diuji.

Salah satu alasan didapatkannya hasil penghambatan adesi maupun invasi yang berbeda adalah akibat perbedaan waktu kontak yaitu 30 menit untuk adesi dan 90 menit untuk invasi. Mengingat *Listeria* mampu menginvasi sel epitel segera setelah terjadi kontak. Moroni dkk membatasi waktu inkubasi selama 30 menit dengan tujuan untuk meminimalkan invasi dan mengoptimalkan adesi. Adesi dan invasi *L. monocytogenes* terjadi dengan mekanisme berbeda mencakup peran protein yang berbeda pula yang ada pada permukaan sel bakteri. Langkah pertama proses invasi adalah adesi bakteri pada sel epitel yang dimodulasi oleh fibronectin. Langkah ini merupakan mekanisme pertahanan non-spesifik dan melibatkan banyak sel dan molekul. Langkah kedua mencakup interaksi yang lebih spesifik dari protein bakteri, interalin dengan reseptor lain yang menghasilkan afinitas interaksi inang-sel yang

tinggi. Sehingga terjadi internalisasi bakteri pada sel-sel inang. Memperhatikan mekanisme ini kemampuan yang lebih besar dari bifidobacteria menghambat invasi *L. monocytogenes* kemungkinan akibat interaksi dengan reseptor spesifik pada sel epitel

Uji hambatan adesi patogen oleh bifidobacteria

Ada banyak cara yang dapat dilakukan dalam pengujian (*assays*) untuk menguji hambatan adesi oleh bifidobacteria, salah satu contoh adalah uji hambatan adesi *L. monocytogenes* oleh bifidobacteria dapat dilakukan sebagai berikut: Biakan *L. monocytogenes* dan bifidobacteria yang sudah dikulturkan semalam dipanen dengan sentrifugasi pada kecepatan $10.000 \times g$ selama 10 menit dan dicuci dua kali dengan *phosphate-buffered saline* (PBS) steril. Mikroorganisme yang telah dicuci ini kemudian disuspensikan dalam DMEM untuk *assays* dengan sel Caco-2 dan pada medium RPMI 1640 untuk *assays* sel HT-29 dengan konsentrasi 5×10^8 CFU/ml untuk *L. monocytogenes* dan 5×10^6 sampai 5×10^8 CFU/ml untuk bifidobacteria. Sel *monolayers* dalam *24-well plates* diinokulasi dengan 250 μ l strain tunggal untuk *assays* adesi atau campuran *Listeria* dan *Bifidobacteria* untuk uji kompetisi hambatan. Untuk uji kompetisi, bifidobacteria ditambahkan bersamaan dengan penambahan *Listeria* atau 1 jam setelah penambahan *Listeria*. *Plates* kemudian diinkubasikan pada kondisi anaerobik pada 37°C selama 30 menit, setelah itu bakteri yang bebas dihilangkan dengan cara pencucian lapisan sel sebanyak dua-kali menggunakan PBS. Sel-sel yang teradesi bakteri dipanen menggunakan tripsin, disentrifugasi pada $10.000 \times g$ selama 5 menit, dan disuspensikan dalam PBS. Adesi sel-sel *L. monocytogenes* dilakukan pada media untuk *Listeria* yang selektif (*Oxoid*) dan diinkubasikan selama 24 sampai 48 jam pada 37°C pada kondisi aerob. Adesi bifidobacteria dilakukan pada media agar MRS dan diinkubasikan selama 24 - 48 jam pada 37°C in dengan suasana anaerob. Kemampuan adesi dinyatakan sebagai jumlah bakteri yang menempel dibagi jumlah total bakteri yang

ditambahkan dikalikan 100. Hambatan adesi *L. monocytogenes* dalam uji kompetisi dinyatakan dalam persen hambatan yang dihitung menggunakan persamaan berikut: **Hambatan adesi = $100(1 - T_1/T_2)$** . Dalam hal ini T_1 dan T_2 adalah jumlah jumlah adesi *Listeria* cells (CFU/well) dengan ada dan tidak adanya bifidobacteria.

Mekanisme Perlindungan Bifidobacteria Terhadap Invasi Patogen Sistem Pencernaan



Efek bifidogenik sebagian besar diketahui, namun mekanisme yang mendasarinya kurang dipahami. Bifidobacteria memberikan efek probiotik terhadap kondisi mulai dari IBS, kolitis ulserativa, penyakit alergi, penyakit terkait Immunoglobulin E (IgE), atopik der-matitis (AD) hingga plak oral. Dengan demikian sangat tidak mungkin bahwa semua strain *bifidobacteria* probiotik beroperasi menggunakan mekanisme tunggal yang sama. Masing-masing tindakan ini melibatkan jalur mekanistik terperinci yang telah dibahas di sini kecuali beberapa hal yang telah dibahas pada bagian sebelumnya.

Produksi Metabolit dan Menurunkan pH

Metabolisme konstituen makanan (seperti fruktan dan karbohidrat yang tidak tercerna) oleh komunitas probiotik usus dapat menghasilkan molekul yang penting secara fisiologis. Enzim seperti α , β -glukosidase, galaktosidase dan fruktofuranosidase yang melibatkan pemecahan residu karbohidrat diet telah dilaporkan diekspresikan oleh strain probiotik di usus. Meskipun aktivitas enzim tergantung pada sumber karbon yang tersedia

dalam media pertumbuhan, namun *B. lactis* BB-12 dilaporkan menunjukkan aktivitas glukosidase dan galaktosidase terlepas dari media yang digunakan. Namun keragaman yang dilaporkan terdapat diantara berbagai spesies gen Bifidobacterium dalam hal aktivitas metabolisme inulin mereka. Metabolit yang diproduksi melalui jalur heterofermentatif seperti asam lemak rantai pendek (SCFA), turunan asam lemak tak jenuh ganda (PUFA), hidrogen peroksida, diacetyl, dan karbon dioksida diketahui memiliki efek penghambatan pada pertumbuhan patogen. SCFA termasuk laktat, format, asetat, propionat, butirrat, dan pimelate. SCFA ini dan asam organik lainnya memainkan peran kunci dalam menurunkan pH usus, mencegah pertumbuhan dan kolonisasi patogen yang sensitif terhadap asam dan pembusukan. Percobaan berbasis in vivo pada Murine menunjukkan peran protektif bifidobacterial acetate terhadap *enterohaemorrhagic Escherichia coli* O157: H7, sementara laktat dan asetat dari *B. breve* DN-156 007 berpartisipasi dalam mengatur proliferasi epitel di usus, berkontribusi terhadap homeostasis usus.

Pelepasan Bakteriosin

Salah satu mekanisme yang paling dikenal dari efek probiotik bifidobacteria adalah melalui pelepasan senyawa (massa molekul mulai dari ~ 3–130 kDa) bakteriosin. Senyawa antimikroba yang disintesis secara ribosom ini pertama kali dilaporkan pada tahun 1980. Senyawa ini menunjukkan aktivitas spesifik strain terhadap strain bakteri intragenus (spektrum sempit) atau intergenus (lebih luas). Sejak identifikasi dan karakterisasi, bakteriosin telah diklasifikasikan ke dalam empat kategori berdasarkan massa molekul, stabilitas termal dan komposisi asam amino. Senyawa-senyawa ini umumnya menunjukkan aktivitas kisaran kasar terhadap beberapa spesies dari genera *Bacillus*, *Enterococcus*, *E. coli*, *Salmonella*, *Clostridium*, *Shigella*, *Staphylococcus*, dan *Streptococcus*. Bakteriosin umumnya mendorong aktivitas antimikroba melalui

pembentukan / permeabilisasi pori yang mengarah ke lisis sel dan mencegah biosintesis dinding sel. Sifat proteinnya membuat mereka resisten terhadap aksi enzim seperti amilase dan lipase tetapi rentan terhadap proteinase. Efek penghambatan maksimum bakteriosin ini telah ditemukan antara 8 dan 16 jam pada kultur sel. Demikian pula Bifidocin A yang diisolasi dari *B. animalis* BB04 menunjukkan berbagai aktivitas bakterisida (melawan bakteri gram positif dan negatif dan bakteri dan beberapa ragi) melalui lisis sel patogen, sedangkan acidocin B diisolasi dari *Bifidobacterium* sp. menghambat *Clostridium* sp. dalam produk makanan fermentasi. Strain yang sensitif dan resisten antibiotik *H. pylori* dihambat oleh bakteriosin bifidobacteria yang stabil secara termal (pada suhu tinggi 80 dan 100°C)

Peningkatan Perlindungan Lapisan Epitelium Saluran Pencernaan

Saluran GI manusia dilapisi dengan lapisan epitel yang dihiasi dengan lapisan vili yang menonjol yang mengisolasi bagian dalam tubuh dari lingkungan luar. Ruang antara dijaga dengan *tight junction* yang mengatur protein transmembran dan sitoskeleton aktin. Persimpangan epitel dinamis namun ketat antara vili mencegah masuknya patogen dan metabolit yang tidak diinginkan ke dalam aliran darah sambil memungkinkan nutrisi penting untuk melewati, pada stimulasi. Namun, patogen tertentu seperti *Vibrio cholerae* melepaskan racun endogen, meningkatkan permeabilitas ikatan epitel. Ini sering menyebabkan gangguan kronis serius yang dikenal sebagai *Leaky gut syndrome* (LGS) dan IBS. Gejala LGS termasuk peradangan dan iritasi yang memungkinkan masuknya toksin patogen ke dalam aliran darah tanpa mengganggu sistem endokrin dan limfatik.

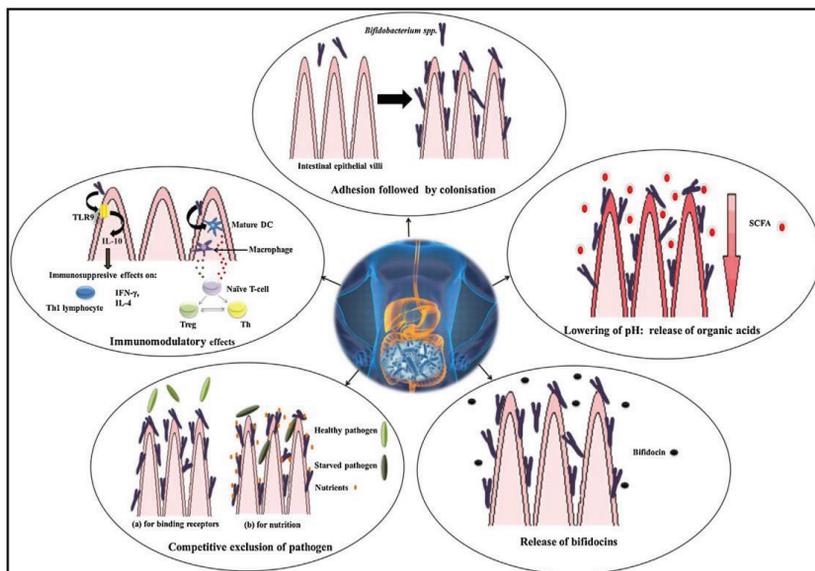
Selain invasi patogen, toksin, sitokin proinflamasi, mediator inflamasi, sel mast, kondisi makanan, stres oksidatif dan produksi

hidrogen peroksida adalah beberapa faktor yang berkontribusi terhadap penurunan fungsi *barier* epitel usus manusia. Probiotik *Bifidobacteria* beroperasi melalui peningkatan strain dan dosis penghalang epitel usus dengan beberapa cara berbeda. Mereka merangsang sekresi lendir kental, lapisan yang terus-menerus berganti, sehingga mencegah adhesi patogen yang kuat. Pengukuran resistansi listrik transepitel menunjukkan pencegahan *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α) yang dimediasi gangguan penghalang epitel oleh spesies bifidobacteria tertentu.

Efek Imunomodulator

Banyak molekul pensinyalan bioaktif imunomodulator probiotik adalah pola molekul terkait mikroba (MAMP) yang berinteraksi dengan *pattern recognition receptors* (PRRs) transmembran seperti *toll-like receptor* (TLR). Mekanisme interaksi yang tepat pada bifidobacteria sebagian besar masih belum diketahui, namun diketahui dapat dimediasi domain CHAP dari TgaA atau dengan pemetaan MAMP-TLR2. Bifidobacteria dilaporkan menunjukkan tidak hanya sebagai spesies tetapi juga sebagai strain yang memiliki potensi imunomodulator spesifik. *B. adolescentis* DB-2458 dan *B. longum* subsp. *infantis* GB-1496 yang diisolasi dari ASI manusia memberikan efek imunomodulator yang kuat melalui regulasi sitokin Th1 / Th2 yang terkait. Hal ini meningkatkan ruang lingkup penggabungan mereka dalam pembentukan probiotik untuk bayi. Regulasi yang bergantung pada dosis level sitokin Th1 / Th2 diamati dalam sel mononuklear darah perifer manusia (PBMCs) yang distimulasi oleh *B. bifidus* dan *B. bayi* adalah strain dalam kombinasi dengan *L. acidophilus*. Sel dendritik (DC) membentuk pintu gerbang ke sistem kekebalan tubuh kita. Penelitian sebelumnya menunjukkan *B. breve* CNCM1-4035 dan supernatan kulturnya mampu meningkatkan respon imun bawaan DC manusia terhadap infeksi patogen *Salmonella enterica serovar Typhi* melalui jalur pensinyalan TLR. Modulasi respon imun in

vitro dengan induksi produksi IL-10 juga telah dilaporkan untuk beberapa anggota spesies *B. adolescentis*, *B. longum* dan *B. bifidum*. Peran probiotik *Bifidobacteria* terhadap invasi pathogen penyakit pada saluran pencernaan dapat diringkas pada Gambar 9.



Gambar 9. Mekanisme perlindungan bifidobacteria ditampilkan terhadap invasi patogen dan imunomodulasi pada epitel usus inang.

Peran *Bifidobacteria sp.* dalam Upaya Tatalaksana dan Pencegahan Diare

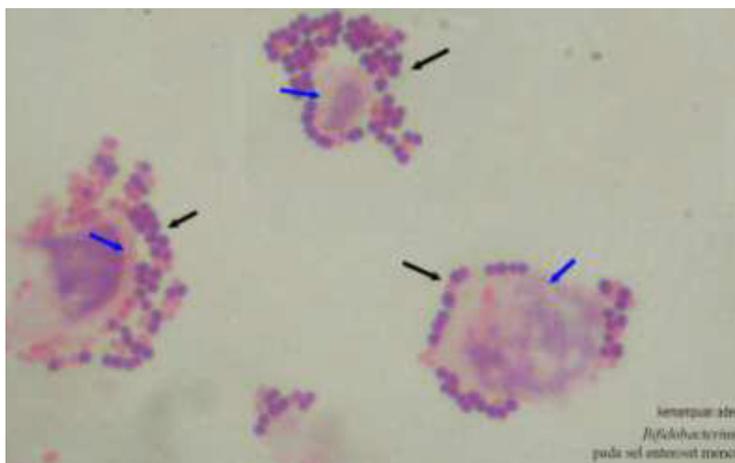


Diare adalah penyakit yang ditandai dengan meningkatnya frekuensi buang air besar (> 3 kali / hari) dimana diikuti dengan perubahan konsistensi feses, dengan / tanpa darah kotor dan / atau lendir. Diare tetap menjadi salah satu penyebab tingginya angka kesakitan dan kematian di seluruh dunia, terutama di negara-negara berkembang termasuk Indonesia. Oleh karena itu, penelitian mengenai manajemen, pencegahan, dan pengobatan penyakit terus ditingkatkan untuk mencari solusi terbaik atas permasalahan tersebut. Laporan WHO menunjukkan bahwa 4 miliar kasus terjadi di seluruh dunia selama tahun 2000. Di Indonesia, angka morbiditas diare akut berada pada kisaran 200-400 kasus per 1000 orang per tahun. Sedangkan berdasarkan angka kejadiannya diketahui bahwa 70-80% merupakan anak-anak di bawah 5 tahun. Kelompok ini mengalami diare lebih dari satu kali per tahun. Sebagian dari pasien ini (1-2%) akan berakhir dengan dehidrasi dan jika tidak ada bantuan yang cukup, 50-60% dari mereka dapat meninggal.

Hasil kajian sebelumnya menunjukkan bahwa penyebab utama diare didominasi oleh bakteri enteropatogenik, termasuk *E. coli* yang melibatkan ETEC dan EPEC, *Salmonella spp.*, *Shigella*

spp., dan *Vibrio spp.* Diare yang disebabkan oleh *S. typhi* diprakarsai oleh penempelan/adhesi bakteri pada dinding usus. Adhesi ini menginduksi migrasi transepitel neutrofil dan kerusakan vili enterosit diikuti oleh kerusakan membran pada lokasi adhesi. Berkaitan dengan hal tersebut maka upaya untuk menemukan suatu agen yang dapat mempengaruhi atau melindungi adhesi bakteri adalah salah satu strategi peneliti untuk mengatasi situasi ini. Agen semacam ini dikenal sebagai anti-adhesi. Agen anti-adhesi bukanlah suatu bakterisida atau antibiotik, oleh karena itu, penyebaran dan kejadiannya untuk terapi tidak akan mengarah pada resistensi. Salah satu agen anti-adhesi yang telah dikenal luas adalah probiotik dari *Bifidobacteria sp.*

Sebuah penelitian uji coba menggunakan rancangan *Randomized Posttest-Only Control Group Design* pada penelitian sebelumnya dilakukan untuk mengetahui kemampuan inhibisi dinding sel 51,74 kDa adhesin pada *Bifidobacteria* terhadap kemampuan adhesi *E. coli* pada sel enterosit usus tikus. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh penulis menunjukkan bahwa terdapat efek adhesi *Bifidobacterium* pada sel enterosit dimana dapat dilihat pada Gambar 10 berikut.



Gambar 10. Kemampuan adhesi *Bifidobacterium* (→) terhadap sel enterosit (→) dengan pembesaran 1000 kali.

Tabel 1. Jumlah perlekatan/adhesi *E. coli* pada sel enterosit pasca paparan konsentrasi 51,74 kDa adhesin dari *Bifidobacterium sp.*

No.	Jumlah Adhesi <i>E. coli</i> pada sel enterosit pasca pemberian 51,74 kDa adhesin					
	0 µl	5 µl	10 µl	15 µl	20 µl	25 µl
1	1570	1310	724	495	321	293
2	1490	1169	710	558	309	207
3	1495	1230	715	579	355	317
4	1482	1322	825	498	321	216
5	1497	1311	621	478	432	207
6	1419	1217	790	415	298	105
7	1410	1210	790	410	290	100
8	1400	1200	700	400	200	90
Rata-rata	1470,38	1246,13	734,38	479,13	315,75	190,58

Pada analisis data yang ditunjukkan pada Tabel 1 berikut menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi 51,74 kDa adhesin *Bifidobacterium* diberikan, maka semakin sedikit adhesi *E. coli* yang terjadi pada sel enterosit usus halus. Hal ini dianggap penting dimana sebagian besar patogen *E. coli* pemicu kejadian diare pada manusia selalu diawali dengan proses adhesi bakteri pada permukaan sel enterosit sebelum mengubah lingkungan biologisnya yang berujung pada kejadian diare. Efek hambatan adhesi *E. coli* tentunya dapat sebagai langkah penting dalam mencegah kejadian diare pada komunitas.

Dapat dilihat dari penelitian sebelumnya bahwa keberadaan *Bifidobacterium sp* menghambat adhesi *E. coli* pada sel enterosit. Sementara itu, seperti yang dapat dilihat pada penilaian mikroskop, *E. coli* sendiri memiliki kemampuan untuk menempel/adhesi pada sel enterosit, dibuktikan dengan keberadaan indeks adhesi sebesar 1470 dibandingkan dengan sekitar tahun 1950 untuk *Bifidobacterium*. Ada juga interaksi atau persaingan antara kedua bakteri ini pada sel enterosit seperti yang ditunjukkan pada

gambar yang sama. Kemampuan adhesi *Bifidobacterium sp* pada enterosit dianggap sebagai perbedaan diri terhadap patogen pada GIT. Penempelan bakteri *Bifidobacterium sp* juga memainkan peran penting untuk lokasi perlengketan maupun secara kompetitif terhadap nutrisi dengan patogen. Adhesi juga memungkinkan *Bifidobacterium sp* untuk menghasilkan senyawa antimikroba dan metabolisme nutrisi untuk menghasilkan asam lemak yang mudah menguap dan metabolisme garam empedu dan mengarah ke lingkungan yang tidak tepat untuk bakteri patogen. Adhesi *Bifidobacterium* pada enterosit dapat dipertimbangkan sebagai perlindungan mukosa usus dan memberikan efek penghalang sterik, oleh karena itu, bakteri patogen tidak dapat kontak dengan mukosa usus. Fenomena ini dikenal sebagai efek pengecualian kompetisi. Hal inilah yang diasumsikan sebagai peran penting *Bifidobacterium sp* tatalaksana maupun pencegahan terhadap diare.

Daftar Pustaka



- Alander, M., Satokari, R., Korpela, R., Saxelin, M., Vilpponen-Salmela, T., Mattila-Sandholm, T., and Von-Wright, A. 1999. Persistence of colonization of human colonic mucus by a probiotic strain, *Lactobacillus rhamnosus* GG after oral consumption. *Appl Environ Microbiol.* 65: p. 351-354.
- Asarat, M., Apostolopoulos, V., Vasiljevic, T., Donkor, O., 2015. Short-chain fattyacids produced by synbiotic mixtures in skim milk differentially regulateproliferation and cytokine production in peripheral blood mononuclear cells,on in peripheral blood mononuclear cells. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 66, 755–765.
- Bai, A. P., Ouyang, Q., Zhang, W., Wang, C. H, and Li, S. F. 2004. Probiotics inhibit TNF-a-induced interleukin-8 secretion of HT29 cells. *World J Gastroenterol.* 10: p. 455-457.
- Bernet, M. F., Brassart, D., Neeser, J. R., and Servin, A. L. 1993. Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. *Appl Environ Microbiol.* 59: p. 4121-4128.
- Bezkorovainy, A. 2001. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *Am J Clin Nutr.* 73(2 Suppl): p. 399S-405S.
- Bindels, L.B., Porporato, P., Dewulf, E.M., 2012. Gut microbiota-derived propionatereduces cancer cell proliferation in the liver. *Br. J. Cancer* 107, 1337–1344.
- Boyle, E. C. and Finlay, B. B. 2003. Bacterial pathogenesis: exploiting cellular adherence. *Curr. Opin. Cell Biol.* 15: p. 633-639
- Coconnier, M. H., Bernet, M. F., Chauviere, G., and Servin, A. L.. 1993a. Adhering heat-killed human *Lactobacillus acidophilus* strain LB, inhibits the process of pathogenically of diarrhoeagenic

- bacteria in culture human intestinal cells. *J Diarrhoeal Dis Res.* 11: p.235-242.
- Coconnier, M. H., Bernet, M. F., Kernis, S., Chauviere, G., Fourniat, J., and Servin, A. L. 1993b. Inhibition of adhesion of enteroinvasive pathogens to human intestinal Caco-2 cells by *Lactobacillus acidophilus* strain LB decrease bacterial invasion. *FEMS. Microbiol Lett.* 110: p. 299-305.
- Cossart, P. and Sansonetti, P. J. 2004. Bacterial invasion: the paradigms of enteroinvasive pathogens. *Science.* 304: p. 242-248.
- Cotter, P. A. and Miller, J. F. 1996. Triggering bacterial virulence. *Science.* 273: p.1183-1184.
- Crociani, J., Grill, J. P., Huppert, M., and Ballongue, J. 1995. Adhesion of different bifidobacteria strains to human enterocyte-like Caco-2 cells and comparison with *in vivo* study. *Lett. Appl. Microbiol.* 21: p.146-148.
- Del-Re, B., Sgorbati, B., Miglioli, M., and Palenzona, D. 2000. Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. *Lett Appl Microbiol.* 31: p. 438-442.
- Del-Re, B., Sgorbati, B., Miglioli, M., and Palenzona, D. 2000. Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. *Lett Appl Microbiol.* 31: p.438-442.
- Erickson, K. L., and Hubbard, N. E. 2000. Probiotic Immunomodulation in Health and Disease. *Journal of Nutrition.* 130: p. 403S – 409S.
- Finegold, S. M., Sutter, V. L., Sugihara, P. T., Elder, H. A., Lehman, S. M., and Phillips, R. L. 1977. Fecal microbial flora in Seventh Day Adventist populations and control subjects. *Am J Clin Nutr.* 30: p. 1781-1792.
- Fujiwara, S., Hashiba, H., Hirota, T., and Forstner, J. F. 1997. Proteinaceous factor(s) in culture supernatant fluids of bifidobacteria which prevents the binding of enterotoxigenic *Escherichia coli* to gangliotetraosylceramide. *Appl Environ Microbiol.* 63: p. 506-512.
- Fujiwara, S., Hashiba, H., Hirota, T., and Forstner, J. F. 1999. Purification and characterization of a novel protein produced by *Bifidobacterium longum* SBT2928 that inhibits the binding of enterotoxigenic

Escherichia coli Pb176 (CFA/II) to gangliotetraosylceramide. J Appl Microbiol. 86: p. 615-621.

- Fujiwara, S., Hashiba, H., Hirota, T., and Forstner, J. F. 2001. Inhibition of the binding of enterotoxigenic *Escherichia coli* Pb176 to human intestinal epithelial cell line HCT-8 by an extracellular protein fraction containing BIF of *Bifidobacterium longum* SBT2928: suggestive evidence of blocking of the binding receptor gangliotetraosylceramide on the cell surface. Int J Food Microbiol. 67: p. 97-106.
- Fukuda, S., Toh, H., Hase, K., 2011. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. Nature 469,543-547.
- Gagnon, M., Kheadr, E. E., Le-Blay, G., and Fliss, I. 2004. *In vitro* inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 by bifidobacterial strains of human origin. Int. J. Food. Microbiol. 92: p. 69-78.
- Gagnon, M., Kheadr, E. E., Le-Blay, G., and Fliss, I. 2004. *In vitro* inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 by bifidobacterial strains of human origin. Int. J. Food. Microbiol. 92: p. 69-78.
- Gilot, P., P. André, and J. Content. 1999. *Listeria monocytogenes* possesses adhesions for fibronectin. Infect. Immun. 67: p. 6698-6701.
- Gioia, D.D., Gaggia, F., Baffoni, L., Stenico, V., 2014. Beneficial microbes fermented and functional foods. In: Rai, V.R., Bai, J.A. (Eds.), Role of Bifidobacteria in the Production of Bioactive Compounds and Detoxification of Harmful Compounds. CRC Press, New York (Chapter 16).
- Gopal, P. K., Prasad, J. Smart, J., and Gill, H. S. 2001. *In vitro* adherence properties of *Lactobacillus rhamnosus* DR20 and *Bifidobacterium lactis* DR10 strains and their antagonistic activity against an enterotoxigenic *Escherichia coli*. Int. J. Food. Microbiol. 67: p. 207-216.
- Gruenheid, S., and Finlay, B. B. 2003. Microbial pathogenesis and cytoskeletal function. Nature. 422: p. 775-781.
- Hadadji, M., Benama, R., Saidi, N., Henni, D. E., and Kihal, M. 2005. Identification of Cultivable *Bifidobacterium* Species Isolated from Breast-Fed Infants Feces in West Algeria. African Journal of Biotechnology. 4(5): 422-430.

- He, F., Ouwehand, A. C., Isolauri, E., Hashimoto, H., Benno, Y., and Salminen, S. 2001. Comparison of mucosal adhesion of Bifidobacteria isolated from healthy and allergic infants. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 30: p. 43-47.
- He, F., Ouwehand, A. C., Isolauri, E., Hashimoto, H., Benno, Y., and Salminen, S. 2001. Comparison of mucosal adhesion of Bifidobacteria isolated from healthy and allergic infants. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 30: p. 43-47.
- Isolauri, E. 2001. Probiotics in human disease. *Am J Clin Nutr.* 73: p. 1142S-1146S.
- Itzhak, O., David, L.H., and Nathan, S. 2003. Anti-Adhesion Therapy of Bacterial Diseases: Prospects and Problems. *FEMS Immunology and Medical Microbiology.* 38:181-191.
- Jacquet, C., Gouin, E., Jeannel, D., Cossart, P., and Rocourt, J. 2002. Expression of ActA, Ami, InlB, and listeriolysin O in *Listeria monocytogenes* of human and food origin. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: p. 616-622.
- Jaradat, Z. W., and Bhunia, A. K. 2003. Adhesion, invasion, and translocation characteristics of *Listeria monocytogenes* serotype in Caco-2 cell and mouse models. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: p. 3640-3645.
- Kagnoff, M. F. and Eckmann, L. 1997. Epithelial cells as sensors for microbial infection. *J Clin Invest.* 100: p. 6-10.
- Kavanaugh, D.W., O'Callaghan, J., Buttó, L.F., 2013. Exposure of *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* to milk oligosaccharides increases adhesion to epithelial cells and induces a substantial transcriptional response. *PLoS One* 8, 1–13.
- Lee, I.-C., Tomita, S., Kleerebezem, M., Bron, P.A., 2013. The quest for probiotic effector molecules-unraveling strain specificity at the molecular level. *Pharmacol. Res.* 69, 61–74.
- Liévin, V., Pieffer, I., Hubaud, S., Rochat, F., Brassart, D., Neeser, J. R., and Servin, A. L. 2000. *Bifidobacterium* strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. *Gut* 47: p. 646-652.
- Madsen, K., Cornish, A., Soper, P., Mckaigney, C., Jijon, H., Yachimec, C., Doyle, J., Jewell, L., and De-Simone, C. 2001. Probiotic bacteria

- enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. *Gastroenterology*. 121: p. 580-591.
- Matsuki, T, Pédrón, T, Regnault, B., Mulet, C., Hara, T, Sansonetti, P.J., 2013. Epithelial cell proliferation arrest induced by lactate and acetate from *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium breve*. *PLoS One* 8, 1–8.
- McCracken, V. J. and Lorenz, R. G. 2001. The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota. *Cell. Microbiol.* 3: p. 1-11.
- Montgomery, R. K., Mulberg, A. E., and Grand, R. J. 1999. Development of the human gastrointestinal tract: twenty years of progress. *Gastroenterology*. 116: p. 702-731.
- Moroni, O., Ehab, K, Yvan, B., Christophe, L., and Ismaïl, F. 2006. Inactivation of Adhesion and Invasion of Food-Borne *Listeria monocytogenes* by Bacteriocin-Producing *Bifidobacterium* Strains of Human Origin. *Applied and Environmental Microbiology*. 72 (11): p. 6894-6901.
- Puertollano, E., Kolida, S., Yaqoob, P., 2014. Biological significance of short-chain fatty acid metabolism by the intestinal microbiome. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 17, 139–144.
- Reid, G. 2000. Probiotic in the Treatment of Diarrheal Diseases. *Current Infectious Diseases Reports*. 2: 78-83.
- Reuter, G. 2001. The *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Microflora of the Human Intestine: Composition and Succession. *Current Issue in Intestinal Microbiology*. 2(2): 45-53.
- Rossi, R., Rossi, L., Fassio, F., 2015. Clinical follow-up of 96 patients affected by irritable bowel syndrome treated with a novel multi-strain symbiotic. *J. Contemp. Immunol.* 2, 49–58.
- Rycroft, C. E., Fooks, L. J., and Gibson, G. R. 1999. Methods for assessing the potential of prebiotics and probiotics. *Curr Opin Clin Nut Metab Care*. 2: p. 481-484.
- Servin, A. L. 2004. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiol. Lett.* 28: p. 405-440.

- Shu, Q. and Gill, H. S. 2001. A dietary probiotic (*Bifidobacterium lactis* HNO19) reduces the severity of *Escherichia coli* O157: H7 infection in mice. *Med Microbiol Immunol.* 89: p.147-152.
- Sugahara, H., Odamaki, T., Fukuda, S., 2015. Probiotic *Bifidobacterium longum* alters gut luminal metabolism through modification of the gut microbial community. *Sci. Rep.* 5, 1–11.
- Tabasco, R., Palencia, P.F.D., Fontecha, J., Peláez, C., Requena, T., 2014. Competition mechanisms of lactic acid bacteria and bifidobacteria: fermentative metabolism and colonization. *LWT—Food Sci. Technol.* 55, 680–684.
- Vuyst, L.D., Leroy, F., 2011. Cross-feeding between bifidobacteria and butyrate-producing colon bacteria explains bifidobacterial competitiveness, butyrate production, and gas production. *Int. J. Food Microbiol.* 149, 73–80.
- Yasmin, A., Butt, M.S., Afzaal, M., Baak, M.V., Nadeem, M.T., Shahid, M.Z., 2015. Prebiotics, gut microbiota and metabolic risks: unveiling the relationship. *J. Funct. Foods* 17, 189–201.
- Zheng, Y. J., Pan, L. J., Wang, L. S., Zhou, D.Y., Guo, L. A., and Yan, Z. 1999. Purified *Bifidobacterium* adhesin. *Chin J Microbiol Immunol.* 19: p. 196.
- Zheng, Y. J., Pan, L. J., Ye, G. A., and Zhou, D. Y. 1997. Study on the adherence of human *Bifidobacteria* to cultured human intestinal epithelial cells. *Chin J Microbiol Immunol.* 17: p. 85-87.

Probiotik Bifidobacteria:

Peran Aktivitas Antagonis Melawan Patogen Enterik Melalui Modulasi Sistem Imun

Peranan probiotik dalam memberikan manfaat kesehatan sudah banyak dikenal luas oleh masyarakat. Berbagai produk olahan berbasis probiotik telah banyak membantu dalam pemeliharaan kesehatan usus kita. Akan tetapi tidak semua jenis spesies bakteri memiliki manfaat tersebut, hanya terdapat beberapa spesies yang dapat dimanfaatkan dalam meningkatkan kesehatan usus, salah satunya adalah dari probiotik *Bifidobacterium sp*

Bifidobacterium sp merupakan salah satu jenis bakteri yang potensinya mulai dilirik secara luas dalam memelihara kesehatan. Sebagai salah satu bentuk probiotik, *Bifidobacterium sp* memiliki peran penting dalam memelihara kesehatan usus dimana melalui peran mukosa sistem gastrointestinal dalam respon imunitas, perspektif umum, aspek invitro terhadap adhesi EPEC, mekanisme perlindungan terhadap invasi patogen saluran cerna, hingga peran *Bifidobacterium sp* dalam upaya tatalaksana maupun pencegahan diare. Berkaitan dengan hal tersebut maka monografi ini akan dapat memberikan pemahaman secara mendalam dan khusus terhadap topik seputar *Bifidobacterium sp*.



I Dewa Made Sukrama lahir di Singaraja, 10 Oktober 1958, lulus dokter di Fakultas Kedokteran Universitas Udayana pada tahun 1985, lulus Magister Sains Imunologi Pascasarjana Universitas Airlangga tahun 1993, dan kemudian memperoleh gelar Doktor Biomedik di Pascasarjana Universitas Udayana. Penulis juga merupakan seorang spesialis mikrobiologi klinik-konsultan. Penulis pernah menjadi Ketua Perhimpunan

Mikrobiologi Indonesia cabang Bali serta saat ini masih aktif sebagai Anggota IDI dan PERALMUNI cabang Bali maupun sebagai anggota Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, RSUP Sanglah, Denpasar, Bali. Di samping pengalaman organisasi, Penulis juga aktif dalam membuat tulisan ilmiah maupun publikasi penelitian baik pada Jurnal Nasional Terakreditasi maupun Internasional Bereputasi. Saat ini penulis menjabat sebagai Wakil Dekan 1 Bagian Akademik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.

