

## Probiotik Indigenus Meningkatkan Profil Kesehatan Usus Halus Tikus yang Diinfeksi *Enteropathogenic E. coli*

Tutik Wresdiyati,<sup>1</sup> Sri Rahmatul Laila,<sup>1</sup> Yeni Setiorini,<sup>1</sup> Irma Isnafia Arief,<sup>2</sup> Made Astawan<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, <sup>2</sup>Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, <sup>3</sup>Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor

### Abstrak

Telah dilaporkan bahwa probiotik dapat memelihara keseimbangan mikroflora usus dan meningkatkan sistem imun usus. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian probiotik *indigenous Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus plantarum* pada profil kesehatan usus halus tikus yang diinfeksi *Enteropathogenic E. coli* (EPEC). Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus–November 2011 di Institut Pertanian Bogor. Sebanyak 90 ekor tikus jantan galur Sprague Dawley telah digunakan dan dibagi menjadi enam kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif (A), perlakuan *Lactobacillus plantarum* (B), perlakuan *Lactobacillus fermentum* (C), perlakuan *Lactobacillus plantarum* dan EPEC (D), perlakuan *Lactobacillus fermentum* dan EPEC (E), dan perlakuan EPEC (F). Perlakuan dilaksanakan selama 21 hari. Setelah tikus dikorbankan, usus halus diproses menggunakan metode *embedding* standar dengan parafin dan diwarnai memakai hematoxilin eosin. Data hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan rancangan acak lengkap *analysis of variance* (ANOVA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan *L. fermentum* dan *L. plantarum* dapat menurunkan persentase kerusakan vili usus halus 14–62% dan meningkatkan tebal mukosa usus halus 14–29%. Simpulan, perlakuan probiotik *indigenous L. fermentum* dan *L. plantarum* dapat meningkatkan kesehatan usus halus. *L. fermentum* lebih baik dalam menghambat kerusakan usus halus tikus yang diinfeksi EPEC. [MKB. 2013;45(2):78–85]

**Kata kunci:** *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), probiotik, usus halus

## Indigenous Probiotic Increased the Health Profile of Small Intestine in Enteropathogenic *E. coli* Infected Rats

### Abstract

It was reported that probiotics could maintain the balance of intestinal microfloral and increase intestinal immune system. The objective of this study was to analyze the influence of indigenous probiotic *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus plantarum* on the morphological profile of small intestine of Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)-infected rats. This study was done from August to November 2011 at Bogor Agricultural University. A total of 90 male rats Sprague Dawley were used in this study. They were divided into 6 groups; negative control (A), *Lactobacillus plantarum* treated (B), *Lactobacillus fermentum* treated (C), *Lactobacillus plantarum* and EPEC treated (D), *Lactobacillus fermentum* and EPEC treated (E), and EPEC infected group (F). The treatments were done for 21 days. Small intestine tissues were processed using paraffin embedding standard method and stained with haematoxylin eosin. The data were analyzed using analysis of variance (ANOVA). The results showed that *L. fermentum* and *L. plantarum* treatments decreased percentage of small intestine villi damage (14 to 62%) and increased the thickness of small intestine mucosa (14 to 29%). In conclusions, treatment of indigenous probiotic *L. fermentum* and *L. plantarum* increase the health of small intestine. *L. fermentum* give better effect in inhibiting the damage of small intestine of rats, which under EPEC infection. [MKB. 2013;45(2):78–85]

**Key words:** *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), probiotic, small intestine

---

**Korespondensi:** Prof. Tutik Wresdiyati, dr.h., PhD, PAVet, Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB Jl. Agathis, Kampus IPB Darmaga Bogor 16880, telepon (0251)8626064, e-mail tutikwr@gmail.com

## Pendahuluan

Kesehatan sistem saluran pencernaan merupakan hal penting yang senantiasa harus dipertahankan. Hal ini disebabkan saluran pencernaan merupakan tempat lewat dan masuknya berbagai nutrisi yang diperlukan untuk kelangsungan kehidupan tubuh. Selain untuk meningkatkan daya serap terhadap makanan, permukaan saluran pencernaan yang luas juga sering terpapar karena berbagai macam zat atau benda asing, termasuk agen patogen. Keberadaan patogen di dalam saluran pencernaan dapat mengakibatkan berbagai penyakit, salah satunya diare.<sup>1</sup> Departemen Kesehatan Republik Indonesia melaporkan setiap anak di Indonesia mengalami diare lk. 1,6–2 kali dalam setahun.<sup>2</sup> Pada tahun 2006, penyakit ini menempati urutan ketiga penyebab kematian di Indonesia sehingga diperlukan upaya agar dapat menjaga kesehatan saluran pencernaan.

Di dalam saluran pencernaan, khususnya pada usus halus, patogen yang sering menyebabkan gangguan adalah *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC). Sudah banyak dilaporkan bahwa mikroorganisme patogen, seperti EPEC yang terdapat dalam saluran pencernaan, dapat merusak mukosa saluran pencernaan secara potensial.<sup>3</sup>

Probiotik telah banyak dilaporkan mampu mempertahankan keseimbangan mikroflora usus dan meningkatkan pertahanan sistem imun tubuh.<sup>4</sup> Scharek dkk.<sup>5</sup> juga melaporkan bahwa probiotik efektif dalam meningkatkan imunitas usus pada anak babi. Sejauh ini, belum ada laporan ilmiah mengenai khasiat probiotik, khususnya probiotik indigenus yang disolasi dari daging sapi peranakan Ongol dalam hal meningkatkan profil kesehatan saluran pencernaan, khususnya morfologi usus halus yang dipapar *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC).

Probiotik yang sering digunakan pada produk pangan komersial adalah bakteri asam laktat jenis *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Arief dkk.<sup>6</sup> telah menemukan 10 bakteri asam laktat (BAL) isolat lokal yang diambil dari daging sapi jenis peranakan Ongol yang dijual di beberapa pasar tradisional di daerah Bogor, Jawa Barat. Sepuluh bakteri asam laktat yang ditemukan tersebut telah diuji secara *in vitro* dan dua di antaranya mempunyai potensi sebagai probiotik, yaitu *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum*.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian jenis probiotik *indigenus Lactobacillus plantarum* dan juga *Lactobacillus fermentum*, yang diisolasi dari daging sapi Ongol di beberapa pasar tradisional di Kota Bogor, pada profil kesehatan usus halus tikus yang diinfeksi *Enteropathogenic E. coli* (EPEC).

## Metode

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah probiotik *indigenus Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum*, yang diisolasi dari daging sapi peranakan Ongol yang dijual di pasar tradisional di Kota Bogor.<sup>6</sup> Untuk studi *in vivo*, digunakan tikus jantan galur Sprague Dawley umur 5–6 minggu, yang diperoleh dari Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. Analisis histologi jaringan usus halus menggunakan larutan fiksatif Bouin, alkohol, xilol, parafin, serta pewarna hematoxilin dan eosin.

Setelah tikus diadaptasikan, kemudian dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif (akuades) (A), *L. plantarum* (B), *L. fermentum* (C), *L. plantarum* + EPEC (D), *L. fermentum* + EPEC (E), dan kontrol positif (EPEC) (F) (Tabel 1).

Semua tikus diberi ransum standar dan air minum disediakan *ad libitum*. Kultur *L. plantarum* dan *L. fermentum* yang diberikan sebanyak 1 mL dengan populasi 108 cfu/mL, sedangkan kultur EPEC yang digunakan sebanyak 1 mL dengan populasi 106 cfu/mL untuk satu kali cekok. *L. plantarum*, *L. fermentum*, dan EPEC diberikan pada tikus percobaan secara per oral menggunakan sonde lambung.<sup>7</sup>

Proses terminasi dan sampling organ usus halus dilakukan tiga kali, yaitu pada hari ke-8 (T1), hari ke-15 (T2), dan hari ke-22 (T3). Organ usus kemudian difiksasi selama 24 jam dalam larutan Bouin.

Komposisi campuran ransum standar pada Tabel 2 disusun berdasarkan standar *Association of Official Agricultural Chemists* (AOAC), yaitu mengandung karbohidrat, protein, lemak, mineral, vitamin, dan air.

Setelah diambil sampel jaringan duodenum, jejunum, dan ileum, dehidrasi dilakukan dengan alkohol bertingkat, dan penjernihan menggunakan xilol, lalu dilakukan *embedding* dalam parafin. Potongan jaringan (4 µm) selanjutnya diproses dengan pewarnaan hematoxilin eosin (HE). Hal ini untuk melihat profil morfologi jaringan duodenum, jejunum, dan ileum tikus kelompok perlakuan tersebut, apakah terdapat pengaruh pemberian probiotik indigenus pada kesehatan usus halus.

Persentase kerusakan vili serta tebal mukosa usus halus (duodenum, jejunum, dan ileum) tikus diamati. Persentase kerusakan vili usus dihitung berdasarkan rumus:

%kerusakan vili=(jumlah vili yang rusak:jumlah vili)x100%.

Tebalnya mukosa usus dihitung berdasarkan tebal rata-rata setiap 10 vili per preparat usus.

**Tabel 1 Kelompok Tikus Perlakuan**

Kelompok Tikus	Perlakuan
A	Tikus kontrol negatif, yaitu tikus yang dicekok akuades mulai hari ke-1 sampai hari ke-21
B	Tikus yang dicekok <i>Lactobacillus plantarum</i> mulai hari ke-1 sampai hari ke-21
C	Tikus yang dicekok <i>Lactobacillus fermentum</i> mulai hari ke-1 sampai hari ke-21
D	Tikus yang dicekok <i>Lactobacillus plantarum</i> mulai hari ke-1 sampai hari ke-21, ditambah cekok EPEC pada hari ke-8 sampai hari ke-14
E	Tikus yang dicekok <i>Lactobacillus fermentum</i> mulai hari ke-1 sampai hari ke-21, ditambah cekok EPEC pada hari ke-8 sampai hari ke-14
F	Kontrol positif, yaitu tikus yang dicekok akuades pada hari ke-1 sampai hari ke-7, kemudian dicekok EPEC pada hari ke-8 sampai hari ke-14, setelah itu dicekok akuades lagi hari ke-15 sampai hari ke-21

Keterangan: cekok akuades pada kelompok kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pengganti cekok *L. plantarum*, *L. fermentum*, ataupun EPEC

Hasil penghitungan dianalisis statistik dengan *analysis of variance* (ANOVA). Apabila ada yang berbeda nyata dilakukan Uji lanjut Duncan.

## Hasil

Kerusakan vili pada usus halus dapat dilihat dari gambaran histologi jaringan usus halus tersebut (Tabel 3). Hasil analisis statistik menunjukkan pada hari ke-8, perlakuan *L. plantarum* maupun *L. fermentum* selama 7 hari belum menunjukkan hasil pada kesehatan vili duodenum, namun secara nyata ( $p > 0,05$ ) sudah dapat menurunkan persentase kerusakan vili ileum tikus, sedangkan pada jejunum, perlakuan *L. fermentum* selama 7 hari sudah mampu menurunkan persentase kerusakan vili jejunum. Perlakuan *L. plantarum* selama 7 hari belum dapat menurunkan persentase

kerusakan vili jejunum tikus percobaan (Tabel 3).

Pada terminasi hari ke-15, perlakuan dengan *L. fermentum* selama 14 hari memperlihatkan efek secara nyata ( $p < 0,05$ ) dalam meningkatkan kesehatan vili usus baik di duodenum, jejunum, maupun ileum tikus yang tidak dipapar EPEC. Hal ini ditunjukkan dengan paling rendahnya persentase kerusakan vili usus halus tersebut, bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan positif (Tabel 3). Perlakuan dengan *L. plantarum* maupun *L. fermentum* selama 14 hari mempunyai efek yang hampir sama terhadap duodenum, baik pada saat dipapar maupun tidak dipapar oleh EPEC, sedangkan pada jejunum, perlakuan *L. fermentum* lebih baik dibandingkan dengan *L. plantarum* dalam mempertahankan vili jejunum dari serangan EPEC. Perlakuan dengan *L. plantarum* selama 14 hari pada tikus yang dipapar EPEC mampu untuk mempertahankan kondisi

**Tabel 2 Komposisi Campuran Ransum Basal Tikus**

Komponen	Sumber	Jumlah (% b/b)	Komposisi (g) dalam 100 g Ransum
Protein	Kasein	10	11,87
Lemak	Minyak jagung	8	7,87
Mineral	Campuran mineral	5	4,79
Vitamin	Campuran vitamin	1	1
Serat	<i>Carboxymethylcellulose</i> (CMC)	1	1
Air	Air	5	3,62
Pati	Maizena (pati jagung)	70	69,85

Keterangan: komposisi atau data proksimat kasein untuk pembuatan ransum tikus percobaan berdasarkan sertifikat analisis terdiri atas 97,4% protein (basis kering) atau 86,0% protein (basis basah), 1,8% abu, 11,6% air, 1,1% lemak, dan <0,1% laktosa

**Tabel 3 Data Persentase Kerusakan Vili Duodenum, Jejunum, dan Ileum**

Perlakuan	Persentase Kerusakan Vili		
	Duodenum	Jejunum	Ileum
<b>Terminasi hari ke-8 (sebelum dipapar EPEC)</b>			
A (Kontrol negatif)	11,34±6,02a	36,54±12,22b	33,75±5,11bc
B ( <i>L. plantarum</i> )	12,45±4,38a	17,14±4,12ab	14,97±6,50a
C ( <i>L. fermentum</i> )	10,33±1,03a	14,85±1,94a	19,96±1,79a
D ( <i>L. plantarum</i> +EPEC)	13,00±4,24a	25,09±4,01ab	26,55±2,19abc
E ( <i>L. fermentum</i> +EPEC)	11,55±0,63a	24,24±0,49ab	20,64±0,65ab
F (Kontrol positif)	11,45±2,05a	30,88±2,89b	34,92±1,31c
<b>Terminasi hari ke-15 (setelah dipapar EPEC selama 7 hari)</b>			
A (Kontrol negatif)	22,87±3,01bc	30,76±1,62b	35,35±0,49bc
B ( <i>L. plantarum</i> )	16,15±0,04abc	21,29±0,29a	26,41±0,72ab
C ( <i>L. fermentum</i> )	9,68±0,45a	18,12±4,28a	18,75±1,06a
D ( <i>L. plantarum</i> +EPEC)	19,09±2,69abc	32,18±3,09b	31,07±0,25bc
E ( <i>L. fermentum</i> +EPEC)	15,84±3,30ab	21,33±6,60a	25,91±8,97ab
F (Kontrol positif)	26,85±9,16b	44,69±1,85c	39,00±5,66c
<b>Terminasi hari ke-22 (7 hari setelah paparan EPEC dihentikan)</b>			
A (Kontrol negatif)	24,19±2,28b	37,00±4,24c	34,94±3,62d
B ( <i>L. plantarum</i> )	13,68±2,58a	19,21±2,79a	23,12±0,30c
C ( <i>L. fermentum</i> )	9,21±0,30a	15,10±1,18a	15,89±2,84b
D ( <i>L. plantarum</i> +EPEC)	24,66±2,35b	46,85±2,62d	34,72±1,97d
E ( <i>L. fermentum</i> +EPEC)	12,95±0,07a	26,00±1,42b	11,89±1,10a
F (Kontrol positif)	32,50±3,54c	54,85±1,21e	42,07±1,52e

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf superscript yang sama pada satu kolom pada masing-masing minggu menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%

kesehatan vili jejunum, seperti kondisi kontrol negatif (Tabel 3, Gambar 1). Persentase kerusakan vili duodenum dan ileum kelompok kontrol positif tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) dengan kelompok kontrol negatif. Pada jejunum, kelompok kontrol positif memiliki persentase kerusakan vili yang paling tinggi secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain. Pada ileum, perlakuan *L. plantarum* selama 14 hari mampu mempertahankan kondisi kerusakan vili usus halus yang dipapar oleh EPEC, seperti kondisi kelompok kontrol negatif.

Pada terminasi hari ke-22, perlakuan tunggal *L. plantarum* atau *L. fermentum* selama 21 hari dapat menekan persentase kerusakan vili duodenum, jejunum, dan ileum tikus percobaan. Pada tikus yang dipapar oleh EPEC, perlakuan *L. fermentum* mampu menekan kerusakan vili duodenum, jejunum, maupun ileum lebih baik dibandingkan dengan perlakuan *L. plantarum*. Perlakuan *L. plantarum* dapat melawan serangan EPEC dan

mempertahankan kondisi mukosa duodenum dan ileum, seperti kondisi kontrol negatif (Tabel 3, Gambar 2). Pada tikus yang dipapar EPEC, perlakuan *L. plantarum* menunjukkan kurang efektif melawan serangan EPEC yang terdapat pada jejunum. Jaringan duodenum, jejunum, dan ileum pada kelompok kontrol positif hari ke-22 mengalami kerusakan vili yang nyata ( $p < 0,05$ ) paling tinggi bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa EPEC menyebabkan kerusakan yang berlanjut pada vili usus halus, walaupun pemberian dari luar telah dihentikan.

Pada terminasi hari ke-8, hasil pengamatan menunjukkan bahwa perlakuan *L. plantarum* maupun *L. fermentum* selama 7 hari belum memberikan efek pada tebal mukosa duodenum, jejunum, dan ileum tikus percobaan.

Pada terminasi hari ke-15, perlakuan *L. plantarum* maupun *L. fermentum* selama 14 hari mampu meningkatkan tebal mukosa duodenum,

**Tabel 4 Rata-rata Tebal Mukosa Duodenum, Jejunum, dan Ileum**

Perlakuan	Persentase Kerusakan Vili		
	Duodenum	Jejunum	Ileum
<b>Terminasi hari ke-8 (sebelum dipapar EPEC)</b>			
A (Kontrol negatif)	3,49±0,874ab	2,87±0,671bc	2,32±0,440a
B ( <i>L. plantarum</i> )	3,64±0,707ab	3,24±0,728c	2,52±0,485a
C ( <i>L. fermentum</i> )	3,90±0,622b	3,19±0,581c	2,57±0,373a
D ( <i>L. plantarum</i> +EPEC)	3,29±0,844a	2,28±0,605a	2,35±0,629a
E ( <i>L. fermentum</i> +EPEC)	3,52±1,185ab	2,99±0,560c	2,34±0,413a
F (Kontrol positif)	3,07±0,743a	2,51±0,567ab	2,39±0,442a
<b>Terminasi hari ke-15 (setelah dipapar EPEC selama 7 hari)</b>			
A (Kontrol negatif)	2,98±0,576a	2,72±0,564a	1,89±0,433a
B ( <i>L. plantarum</i> )	3,85±0,984b	3,65±0,672bc	2,47±0,375c
C ( <i>L. fermentum</i> )	4,20±1,049b	3,92±0,752c	2,52±0,442c
D ( <i>L. plantarum</i> +EPEC)	3,64±0,659b	3,27±0,545b	2,19±0,351b
E ( <i>L. fermentum</i> +EPEC)	3,90±1,042b	3,59±0,812bc	2,41±0,467bc
F (Kontrol positif)	2,69±0,515a	2,64±0,671a	1,88±0,303a
<b>Terminasi hari ke-22 (7 hari setelah paparan EPEC dihentikan)</b>			
A (Kontrol negatif)	2,65±0,474ab	2,71±0,845b	2,11±0,278a
B ( <i>L. plantarum</i> )	3,46±0,976c	3,07±0,455c	2,50±0,349d
C ( <i>L. fermentum</i> )	3,64±0,781c	3,11±0,411c	2,40±0,296cd
D ( <i>L. plantarum</i> +EPEC)	2,96±0,800b	2,84±0,329bc	2,15±0,298ab
E ( <i>L. fermentum</i> +EPEC)	2,99±0,689b	2,79±0,371bc	2,30±0,330bc
F (Kontrol positif)	2,48±0,580a	2,26±0,554a	2,09±0,290a

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf superscript yang sama pada satu kolom pada masing-masing minggu menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%

jejunum, dan ileum secara nyata ( $p < 0,05$ ) baik pada kelompok tikus yang dipapar EPEC maupun tidak, dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif (Tabel 4, Gambar 1). Hanya pada bagian ileum, perlakuan tunggal *L. plantarum* memberikan efek yang lebih baik pada tebal mukosa ileum dibandingkan dengan pemberian *L. plantarum* pada tikus yang dipapar EPEC.

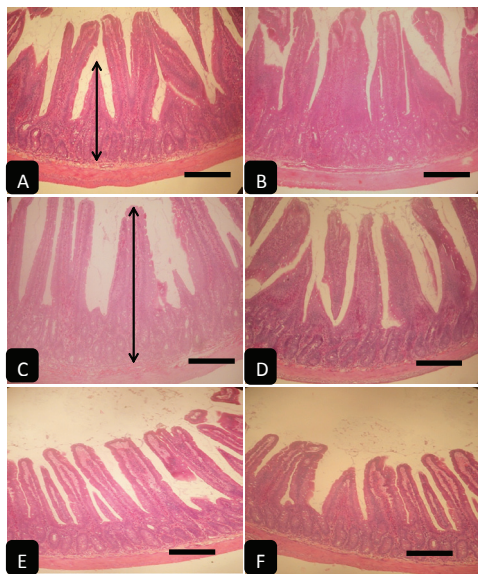
Terminasi perlakuan hari ke-22, *L. fermentum* maupun *L. plantarum* selama 21 hari dapat meningkatkan ketebalan mukosa duodenum, jejunum, dan ileum secara nyata ( $p < 0,05$ ) pada kelompok tikus yang tidak dipapar EPEC (Tabel 4, Gambar 2). Pada tikus yang dipapar EPEC, perlakuan *L. fermentum* maupun *L. plantarum* selama 21 hari dapat mempertahankan kondisi ketebalan mukosa duodenum, jejunum, serta ileum seperti pada kelompok kontrol negatif, sedangkan pada mukosa ileum, pada tikus yang dipapar EPEC, perlakuan *L. fermentum* selama

21 hari dapat memberikan efek meningkatkan tebal mukosa lebih baik dibandingkan dengan perlakuan *L. plantarum*.

## Pembahasan

Perlakuan probiotik *indigenus L. plantarum* maupun *L. fermentum* selama 7 hari sudah mampu menurunkan persentase kerusakan vili ileum, sedangkan perlakuan *L. fermentum* selama 7 hari juga dapat menurunkan persentase kerusakan vili jejunum. Hal ini menunjukkan bahwa probiotik *indigenus* tersebut mampu bekerja dan berfungsi dengan baik dalam meningkatkan kesehatan usus halus tikus percobaan. Telah dilaporkan bahwa perlakuan *L. plantarum* selama 7 hari sudah dapat meningkatkan keragaman bakteri gram-positif dan menurunkan jumlah bakteri gram-negatif pada usus individu yang baru lahir.<sup>8</sup> Strompfová dkk.<sup>9</sup> juga melaporkan bahwa pemberian  $1 \times 10^9$



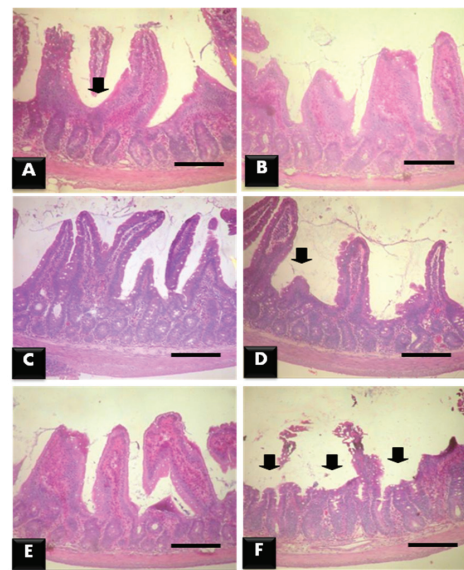


**Gambar 1** Foto Mikrograf Jejunum Tikus pada Hari ke-15 (HE)

Keterangan: Perlakuan probiotik *indigenus* *L. fermentum* maupun *L. plantarum* selama 14 hari dapat menekan kerusakan vili dan meningkatkan ketebalan mukosa jejunum, baik pada kelompok yang tidak dipapar EPEC (B dan C), maupun kelompok yang dipapar EPEC (D dan E). Kerusakan vili jejunum ditunjukkan oleh tanda (↓). A: kelompok kontrol negatif, B: kelompok perlakuan *L. plantarum*, C: kelompok perlakuan *L. fermentum*, D: kelompok perlakuan *L. plantarum* + EPEC, E: kelompok perlakuan *L. fermentum* + EPEC, F: kelompok kontrol positif (EPEC). Skala —:200 μm

cfu/mL dengan *L. fermentum* selama 7 hari dapat meningkatkan populasi mikrob *Lactobacillus* spp. dan *Enterococcus* spp. berturut-turut sebanyak 55% dan 25% pada usus anjing yang sehat.

Jumlah persentase kerusakan vili duodenum, jejunum, dan ileum pada tikus yang tidak dipapar EPEC juga menurun setelah perlakuan probiotik *indigenus* *L. fermentum* selama 14 hari. Pada tikus yang dipapar EPEC, perlakuan probiotik *indigenus* *L. plantarum* maupun *L. fermentum* selama 14 hari juga dapat menurunkan persentase kerusakan vili duodenum. Perlakuan probiotik *indigenus* tersebut selama 14 hari juga meningkatkan secara nyata ( $p < 0,05$ ) tebal mukosa duodenum, jejunum, dan ileum tikus yang dipapar EPEC maupun tidak. Probiotik *L. fermentum* meningkatkan kesehatan dan pertahanan mukosa usus inang dengan beberapa mekanisme, antara lain dengan menempel sangat baik pada sel epitel dan permukaan mukosa usus inang, sehingga dapat menghambat penempelan



**Gambar 2** Foto Mikrograf Duodenum Tikus Hari ke-22 (HE)

Keterangan: Perlakuan tunggal probiotik *indigenus* *L. fermentum* maupun *L. plantarum* selama 21 hari mampu menekan kerusakan vili dan meningkatkan tebal mukosa duodenum (↑). Perlakuan *L. fermentum* pada tikus yang dipapar EPEC juga dapat menekan kerusakan vili duodenum lebih baik dibandingkan dengan *L. plantarum*. Perlakuan *L. fermentum* maupun *L. plantarum* pada tikus yang pernah dipapar EPEC mampu mempertahankan tebal mukosa duodenum. A: kelompok kontrol negatif, B: kelompok perlakuan *L. plantarum*, C: kelompok perlakuan *L. fermentum*, D: kelompok perlakuan *L. plantarum* + EPEC, E: kelompok perlakuan *L. fermentum* + EPEC, F: kelompok kontrol positif (EPEC). Skala —:200 μm

bakteri patogen.<sup>10</sup> Selain itu, *L. fermentum* juga dapat menyekresikan metabolit antimikrob<sup>10</sup> dan antiinflamasi.<sup>11</sup> Pada beberapa kasus, probiotik mampu menggantikan tempat bakteri patogen meskipun patogen telah melekat pada sel epitel sebelum pemberian perlakuan probiotik.

Hata dkk.<sup>12</sup> melaporkan bahwa *L. plantarum* A-1 menghasilkan senyawa bakteriosin yang disebut ASM-1 yang juga mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*. Telah dilaporkan juga *L. fermentum* F6 memiliki aktivitas antimikrob terhadap mikroorganisme patogen.<sup>13</sup> Arief dkk.<sup>6</sup> melaporkan probiotik *indigenus* *L. plantarum* secara *in vitro* juga dapat menghasilkan senyawa antimikrob yang bersifat bakterisidal yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Telah banyak dilaporkan bahwa *L. plantarum* mempertinggi pertahanan selular pada mukosa

usus halus dengan cara meningkatkan jumlah protein *tight junction*, yaitu protein yang dapat menghubungkan antara membran sel satu dan yang lain untuk mengatur perpindahan material interselular. Peningkatan jumlah *tight junction* akan menurunkan permeabilitas selular sehingga sel lebih selektif dalam menerima zat atau bahan asing dari luar.<sup>14</sup>

Tebal mukosa usus halus yang diberi probiotik akan meningkat disebabkan karena peningkatan tinggi vili serta kedalaman kriptas. Probiotik mampu menginduksi asam lemak rantai pendek. Peningkatan asam lemak rantai pendek mampu menstimulasi proliferasi sel epitel.<sup>15</sup> Smith dkk.<sup>16</sup> juga melaporkan bahwa pemberian *L. fermentum* BR11 meningkatkan tebal mukosa usus halus tikus. Probiotik *L. plantarum* VTTE-78076 juga dilaporkan mampu meningkatkan tinggi vili usus anak babi.<sup>17</sup>

Probiotik *indigenous L. plantarum* maupun *L. fermentum* yang diisolasi dari daging sapi lokal peranakan Ongol, kemungkinan juga memiliki aktivitas antimikrob yang mampu menghambat perkembangan EPEC serta mampu menstimulasi proliferasi sel epitel usus halus tikus percobaan.

Terminasi hari ke-15, ternyata kerusakan vili duodenum dan ileum kelompok kontrol positif tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) dengan kelompok kontrol negatif. Keadaan ini disebabkan karena aktivitas pertumbuhan mikroorganisme patogen di duodenum cenderung sedikit. Faktor yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme tersebut di antaranya kondisi lumen duodenum yang kaya garam empedu dan sekreta pankreas. Selain hal ini, pergerakan peristaltik duodenum yang cepat juga mencegah menetapnya patogen di dalam duodenum, sedangkan ileum dilengkapi dengan jaringan limfatik yang besar, yaitu daun payer sebagai pertahanan terhadap patogen.

Jejunum kelompok kontrol positif memiliki persentase kerusakan vili yang paling tinggi secara nyata ( $p < 0,05$ ) bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya pada terminasi hari ke-15. Bakteri EPEC merupakan *strain E. coli* yang bersifat patogen. Bakteri EPEC terutama menyerang jejunum karena ukuran jejunum yang lebih panjang dibandingkan dengan duodenum dan ileum sehingga paparan EPEC cenderung lebih lama terjadi di jejunum. Selain itu, jejunum memiliki regenerasi sel epitel vili yang lebih lambat bila dibandingkan dengan duodenum dan ileum sehingga eliminasi EPEC yang menempel pada sel epitel vili juga menjadi lebih lambat.<sup>18</sup> Di jejunum pertahanan mukosa yang dominan adalah sekresi mukus dari sel goblet, karena jumlah sel-sel goblet terbanyak terdapat pada jejunum. Namun, telah dilaporkan bahwa EPEC mampu untuk tumbuh pada kondisi mukus yang

tinggi, seperti di jejunum.<sup>19</sup>

Perlakuan probiotik *indigenous L. plantarum* maupun dengan *L. fermentum* selama 21 hari juga mampu menekan persentase kerusakan vili dan meningkatkan ketebalan mukosa usus halus (duodenum, jejunum, dan ileum) tikus yang tidak dipapar EPEC, sedangkan pada tikus yang dipapar EPEC, perlakuan *L. fermentum* berefek lebih baik dibandingkan dengan *L. plantarum*. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan probiotik indigenus tersebut selama 21 hari masih mampu meningkatkan kesehatan vili usus halus baik pada tikus yang dipapar EPEC maupun tidak. Peran dkk.<sup>11</sup> melaporkan bahwa pemberian *L. fermentum* selama 3 minggu dapat memperbaiki mukosa usus besar pada tikus kolitis dengan merangsang pertumbuhan sel epitel dan sel goblet.

Perlakuan EPEC menurunkan tebal mukosa jejunum serta meningkatkan persentase kerusakan vili duodenum, jejunum, dan ileum walaupun pemberian EPEC sudah dihentikan selama satu minggu. Hal ini menunjukkan bahwa efek infeksi EPEC masih terlihat seminggu setelah paparan dihentikan, yang disebabkan oleh karena masa inkubasi EPEC di dalam saluran pencernaan berkisar 1–3 hari, dengan durasi infeksi selama 1–2 minggu.<sup>20</sup> Eliminasi EPEC selama satu (1) minggu belum tuntas dan infeksi EPEC pada mukosa usus halus tikus masih berlanjut.

Simpulan, perlakuan tunggal dengan probiotik *indigenous L. plantarum* maupun *L. fermentum* dapat menekan kerusakan vili dan meningkatkan ketebalan mukosa usus halus tikus. Pada tikus yang dipapar EPEC, perlakuan *L. plantarum* maupun *L. fermentum* selama 14 hari juga mampu menekan kerusakan vili dan dapat meningkatkan tebal mukosa usus halus tikus. Perlakuan *L. fermentum* selama 21 hari terhadap tikus yang dipapar EPEC dapat menekan kerusakan vili usus halus tikus lebih baik dibandingkan dengan perlakuan *L. plantarum*, sedangkan pemberian *L. plantarum* maupun *L. fermentum* selama 21 hari pada tikus yang pernah dipapar EPEC mampu mempertahankan tebal mukosa usus halus tikus, seperti kondisi kontrol negatif.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional Republik Indonesia, yang telah memberikan dana penelitian melalui Hibah Kompetensi, dengan Nomor Kontrak: 375/SP2H/PL/Dit.Litabmas/IV/2011, tanggal 14 April 2011, atas nama Made Astawan.

## Daftar Pustaka

1. Schiller LR, Sellin JH. Diarrhea. Dalam: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, penyunting. Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis and management. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010. hlm. 159–86.
2. Prasetyo D, Fadlyana E. Hubungan antara pemberian air susu ibu dan kejadian diare pada masa bayi. MKB. 2004;36(2):60–3.
3. Savkovic SD, Villanueva J, Turner JR, Mathowsky KA, Hecht G. Mouse model of enteropathogenic *Escherichia coli* infection. Infect Immunol. 2005;73(2):1161–70.
4. Commane D, Hughes R, Shortt C, Rowland I. The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics. Muta Res. 2005;591(1–2):276–89.
5. Scharek L, Altherr BJ, Tölke C, Schmidt MF. Influence of the probiotic *Bacillus cereus* var. toyoi on the intestinal immunity of piglets. Vet Immunol Immunopathol. 2007;120(3–4):136–47.
6. Arief II, Jenie BSL, Astawan M, Witarto AB. Efektivitas probiotik *Lactobacillus plantarum* 2C12 dan *Lactobacillus acidophilus* 2B4 sebagai pencegah diare pada tikus percobaan. Media Pet. 2010;33(3):137–43.
7. Oyetayo VO. Performance of rats dosed with faecal strains of *Lactobacillus acidophilus* and experimentally challenged with *Escherichia coli*. Afr J Biotechnol. 2004;3(8):409–11.
8. Panigrahi P, Parida S, Pradhan L, Mohapatra SS, Misra PR, Johnson JA, dkk. Long-term colonization of a *Lactobacillus plantarum* synbiotic preparation in the neonatal gut. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2008;47(1):45–53.
9. Strompfová V, Marcináková M, Simonova M, Bogovic-Matijasić B, Lauková A. Application of potential probiotic *Lactobacillus fermentum* AD1 strain in healthy dogs. Anaerobe. 2006;12(2):75–9.
10. Bao Y, Zhang Y, Zhang Y, Liu Y, Wang S, Dong X, dkk. Screening of potential probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* isolated from traditional dairy products. Food Control. 2010;21:695–701.
11. Peran L, Camuesco D, Comalada M, Nieto A, Concha A, Andrio JL, dkk. *Lactobacillus fermentum*, a probiotic capable to release glutathione, prevents colonic inflammation in the TNBS model of rat colitis. Int J Colorectal Dis. 2006;21(8):737–46.
12. Hata T, Tanaka R, Ohmomo S. Isolation and characterization of plantaricin ASM1: a new bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* A-1. Int J Food Microbiol. 2010;137(1):94–9.
13. Zhang Y, Liu Y, Bao Y, Zhang H. Influence of pH, heat and enzymatic treatments on the activity of antibacterial substance in MRS and milk media produced by *Lactobacillus fermentum* F6. Agric Sci China. 2010;9(6):911–20.
14. Anderson CR, Cookson AL, McNabb WC, Park Z, McCann MJ, Kelly WJ, dkk. *Lactobacillus plantarum* MB452 enhances the function of the intestinal barrier by increasing expression levels of genes involved in tight junction formation. BMC Microbiol. 2010;10:316.
15. Harimurti S, Rahayu ES. Morfologi usus ayam broiler yang disuplementasi dengan probiotik strain tunggal dan campuran. Agritech. 2009;29(3):179–83.
16. Smith CL, Geier MS, Yazbeck R, Torres DM, Butler RN, Howarth GS. *Lactobacillus fermentum* BR11 and fructo-oligosaccharide partially reduce jejunal inflammation in a model of intestinal mucositis in rats. Nutr Cancer. 2008;60(6):757–67.
17. Canibe N, Miettinen H, Jensen BB. Effect of adding *Lactobacillus plantarum* or a formic acid containing-product to fermented liquid feed on gastrointestinal ecology and growth performance of piglets. Livestock Sci. 2008;114(2–3):251–62.
18. Samba-Louaka A, Nougayrède JP, Watrin C, Oswald E, Taieb F. The enteropathogenic *Escherichia coli* effector Cif induces delayed apoptosis in epithelial cells. Infect Immunol. 2009;77(12):5471–7.
19. Edelman S, Leskela S, Ron E, Apajalahti J, Korhonen TK. In vitro adhesion of an avian pathogenic *E. coli* O78 strain to surfaces of the chicken intestinal tract and to ileal mucus. Vet Microbiol. 2003;91(1):41–56.
20. Percival S. *Escherichia coli*. Dalam: Percival S, Chalmers R, Embrey M, Paul H, Sellwood J, Wyn-Jones P, penyunting. Microbiology of waterborne disease. London: Elsevier Academic; 2004. hlm. 71–84.