

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Prevalensi penyakit alergi termasuk rinitis dan asma di seluruh dunia cenderung meningkat (Asher *et al.*, 2006; Björkstén *et al.*, 2008; Pearce *et al.*, 2007; Wong *et al.*, 2013; Brozek *et al.*, 2015). Di beberapa negara industri maju, prevalensinya cenderung mendatar (Lundbäck *et al.*, 2016), sebaliknya di berbagai negara sedang berkembang, termasuk Indonesia, prevalensinya cenderung meningkat. Prevalensi sensitisasi dan penyakit alergi lebih tinggi di daerah semi perkotaan Makasar dibandingkan daerah pedesaan di Flores (Hamid *et al.*, 2013). Begitu pula di lingkungan kota Surabaya menyerupai angka prevalensi di negara industri maju (Soegiarto *et al.*, 2019).

Penyakit alergi seperti rinitis dan asma menyebabkan berbagai masalah kesehatan, antara lain dampak ekonomi yang dihitung dari biaya medis langsung maupun tidak langsung (Lai *et al.*, 2006; Bahadori *et al.*, 2009; Sullivan *et al.*, 2017; Enilari & Sinha, 2019), juga dapat memengaruhi kualitas hidup seperti gangguan tidur, masalah di sekolah, tempat kerja maupun kehidupan sosial (Walker *et al.*, 2007), serta fungsi emosional (Sritipsukho *et al.*, 2015). Masalah tersebut bukan masalah yang dapat dianggap remeh, sehingga perlu segera diatasi dan sedapat mungkin dicegah.

Adanya peningkatan prevalensi penyakit alergi yang sangat cepat menyiratkan besarnya pengaruh perubahan lingkungan. Adanya konsep *the hygiene hypothesis* yang menjelaskan kecenderungan peningkatan ini

berhubungan dengan perubahan berkurangnya jumlah anggota keluarga dan penurunan angka infeksi saat usia dini (Strachan, 1989) dan *the biodiversity hypothesis* dengan konsep bahwa berkurangnya kontak dengan lingkungan alami dan biodiversitas, termasuk mikrobiota lingkungan menyebabkan stimulasi dan regulasi sistem imun yang tidak adekuat (Von Hertzen *et al.*, 2011), mengisyaratkan peran positif paparan mikroba yang akan menyebabkan polarisasi ke arah respons Th1, jadi tidak bergeser ke arah respons Th2 yang selama ini kita ketahui berperan dalam terjadinya penyakit alergi. Pada tinjauan sistematis terakhir, ditunjukkan bahwa berkurangnya diversitas bakteri berasosiasi dengan perkembangan penyakit alergi (Zimmermann *et al.*, 2019). Selanjutnya adanya konsep *the gut-lung axis* (Marsland *et al.*, 2015; He *et al.*, 2016; Anand & Mande, 2018; Enaud *et al.*, 2020) memungkinkan manipulasi di saluran cerna akan memberikan manfaat pada saluran napas dimana hal ini perlu dibuktikan apakah secara konseptual memang benar adanya. Berdasarkan perspektif tersebut, maka penggunaan suplementasi probiotik nampaknya bisa menjadi pilihan untuk pencegahan penyakit alergi saluran napas.

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang memberikan manfaat kesehatan bagi *host* bila diberikan dalam jumlah adekuat (FAO-WHO, 2002). Probiotik yang ditelan dapat memodifikasi flora mikroba yang bermanfaat bagi *host* (Zuccotti *et al.*, 2015). Beberapa probiotik khususnya genus *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* telah diteliti secara luas sebagai pilihan alternatif untuk pencegahan dan terapi penyakit alergi (Cuello-Garcia *et al.*, 2015). Meta-analisis menyebutkan efikasi dari probiotik selain tergantung galur juga tergantung jenis penyakit (McFarland *et al.*, 2018). Meta-analisis mengenai suplementasi probiotik

pada anak-anak dengan asma tidak mengonfirmasi atau mengesampingkan efek menguntungkan dari probiotik (Lin *et al.*, 2018). Sedangkan meta-analisis mengenai efek suplementasi probiotik selama kehamilan dan masa bayi menyimpulkan probiotik mungkin mengurangi kejadian asma yang ditunjukkan pada analisis subgroup efek positif *Lactobacillus rhamnosus* GG pada pencegahan asma, tetapi bagaimanapun juga masih diperlukan studi lebih lanjut untuk mengevaluasi peran probiotik secara pasti pada pencegahan asma (Du *et al.*, 2019).

Lactobacillus plantarum IS-10506 merupakan probiotik galur asli Indonesia yang berasal dari dadih, susu kerbau fermentasi tradisional dari Sumatera Barat (Surono, 2003; Collado *et al.*, 2007a, 2007b). Penelitian sebelumnya menunjukkan pemberian *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dapat menurunkan reaksi alergi pada mencit BALB/c yang disensitisasi dengan *ovalbumin* (OVA) (Endaryanto, 2007), pada pasien dermatitis atopik anak (Prakoeswa *et al.*, 2017), maupun pada pasien dermatitis atopik dewasa (Prakoeswa *et al.*, 2020).

Epitel saluran napas membentuk fungsi *barrier* struktural pertama terhadap alergen inhalan. Fungsi *barrier* epitel ini dipertahankan terutama oleh pembentukan *tight junctions* (TJ) yang terdiri dari protein penyusun seperti *claudins*, *occludin*, dan *zonula occludens* (ZO) dan *adherens junctions* (AJ) yang terdiri dari E-cadherin, β -catenin, dan α -catenin (Holgate, 2008; Post *et al.*, 2012). Perubahan pada protein TJ berupa penurunan ekspresi mRNA *TJPI* (ZO-1) dan *claudin*-18 didapatkan pada mencit yang diberi ekstrak tungau debu rumah untuk menginduksi inflamasi alergi saluran napas (Tan *et al.*, 2019). Defisiensi

claudin-18 mengakibatkan disfungsi *barrier* epitel, kerusakan, dan gangguan alveolarisasi pada mencit (LaFemina *et al.*, 2014). Defisiensi *claudin-18* juga diidentifikasi pada sel saluran napas pasien asma (Sweerus *et al.*, 2017). Berbagai penelitian tersebut menggarisbawahi pentingnya protein TJ pada stadium awal asma alergi. Adanya kerusakan *barrier* epitel dapat memudahkan masuknya alergen lebih lanjut ke dalam epitel saluran napas yang kemudian menyebabkan aktivasi sistem imun dan inflamasi lokal yang merupakan karakteristik dari penyakit alergi (Smith *et al.*, 2020). Hal ini membuat *barrier* epitel merupakan salah satu target penting pada pencegahan penyakit alergi.

Berbagai penelitian mengenai pengaruh penggunaan probiotik untuk perbaikan TJ yang sudah dipublikasi selama ini berfokus pada saluran cerna, baik secara *in vitro* (Resta-Lenert & Barret, 2003; Zyrek *et al.*, 2007; Anderson *et al.*, 2010; Hummel *et al.*, 2012; Orlando *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2018; Rhayat *et al.*, 2019), secara *in vivo* pada model hewan coba (Laval *et al.*, 2015; Kozakova *et al.*, 2016; Gao *et al.*, 2019; Tulyeu *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2020), maupun pada subjek manusia (Karczewski *et al.*, 2010). Pengaruh *Lactobacillus plantarum* IS-10506 pada perbaikan TJ saluran cerna sudah pernah diteliti secara *in vivo* pada tikus Wistar yang diinduksi lipopolisakarida (LPS) dari *E. coli* serotipe O55:B5 menunjukkan peningkatan ekspresi *occludin* dan ZO-1 dimana mekanisme perbaikan terjadi melalui jalur *signalling* ERK1/MAPK dan JNK/MAPK (Ranuh, 2008). Sedangkan penelitian yang menjelaskan pengaruh probiotik pada TJ saluran napas masih sangat terbatas, yaitu satu-satunya penelitian *in vitro* stimulasi sel epitel bronkus manusia Calu-3 dengan lipopeptida Pam3CysSK4 bakteri sintetik meningkatkan ekspresi *claudin-1* dan ZO-1 (Ragupathy *et al.*,

2014). Dengan demikian, pengaruh probiotik pada TJ saluran napas masih belum sepenuhnya jelas sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Penelitian ini ingin mengetahui pengaruh *Lactobacillus plantarum* IS-10506 terhadap ekspresi protein penyusun TJ saluran napas yang diwakili oleh *claudin*-18, *occludin*, dan *ZO*-1 pada pencegahan inflamasi alergi saluran napas. Inflamasi alergi sendiri merupakan tanda patologi dari penyakit inflamatori termasuk asma (Nakayama, 2017). Model inflamasi alergi saluran napas pada penelitian ini dilakukan melalui sensitisasi dan paparan dengan alergen *Dermatophagoides pteronissinus* (Der p).

Peranan sel Th2 sangat menonjol pada patofisiologi penyakit alergi, namun demikian beberapa tipe sel T lain juga berperan, seperti sel Treg yang mempunyai fungsi supresi dan sel Th17 yang mempunyai efek proinflamasi (Barnes, 2014). Selama ini efek probiotik diketahui dapat menurunkan sitokin Th2, meningkatkan sitokin Th1, meningkatkan jumlah dan fungsi sel Treg, menurunkan sitokin Th17 (IL-17A), menurunkan IgE spesifik alergen, dan meningkatkan IgA mukosa (Jan *et al.*, 2012; Toh *et al.*, 2012). Penelitian ini juga ingin menganalisis pengaruh *Lactobacillus plantarum* IS-10506 terhadap kadar sitokin Th1/Th2/Th17, IgE dan IgA spesifik Der p. Penelitian eksperimental ini menggunakan prosedur perlakuan invasif dan pemeriksaan akhir yang berakibat fatal, maka penelitian ini menggunakan subjek hewan coba mencit.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat perbedaan ekspresi protein *claudin*-18 antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan

Lactobacillus plantarum IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506?

2. Apakah terdapat perbedaan ekspresi protein *occludin* antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506?
3. Apakah terdapat perbedaan ekspresi protein ZO-1 antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506?
4. Apakah terdapat perbedaan kadar sitokin Th1 (IL-2 dan IFN- γ) antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506?
5. Apakah terdapat perbedaan kadar sitokin Th2 (IL-4, IL-5, dan IL-13) antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506?
6. Apakah terdapat perbedaan kadar sitokin Th17 (IL-17A) antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan

Lactobacillus plantarum IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506?

7. Apakah terdapat perbedaan kadar IgE spesifik Der p antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506?
8. Apakah terdapat perbedaan kadar IgA spesifik Der p antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506?
9. Apakah terdapat perbedaan jumlah sel inflamasi antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506?
10. Apakah terdapat perbedaan derajat inflamasi histopatologi paru antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Menjelaskan pengaruh *Lactobacillus plantarum* IS-10506 terhadap ekspresi protein penyusun *tight junctions*, kadar sitokin Th1/Th2/Th17, IgE dan IgA spesifik Der p sebagai potensi pencegahan inflamasi alergi saluran napas.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Menganalisis perbedaan ekspresi protein *claudin*-18 antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506.
2. Menganalisis perbedaan ekspresi protein *occludin* antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506.
3. Menganalisis perbedaan ekspresi protein ZO-1 antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506.
4. Menganalisis perbedaan kadar sitokin Th1 (IL-2 dan IFN- γ) antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus*

plantarum IS-10506.

5. Menganalisis perbedaan kadar sitokin Th2 (IL-4, IL-5, dan IL-13) antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506.
6. Menganalisis perbedaan kadar sitokin Th17 (IL-17A) antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506.
7. Menganalisis perbedaan kadar IgE spesifik Der p antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506.
8. Menganalisis perbedaan kadar IgA spesifik Der p antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506.
9. Menganalisis perbedaan jumlah sel inflamasi antara kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506.
10. Menganalisis perbedaan derajat inflamasi histopatologi paru antara

kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dengan kelompok mencit model inflamasi alergi saluran napas yang tidak mendapatkan *Lactobacillus plantarum* IS-10506.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Memberikan kontribusi keilmuan dalam menjelaskan pengaruh *Lactobacillus plantarum* IS-10506 terhadap ekspresi protein penyusun *tight junctions*, kadar sitokin Th1/Th2/Th17, IgE dan IgA spesifik Der p sebagai potensi pencegahan inflamasi alergi saluran napas serta dapat digunakan sebagai dasar ilmiah pemberian probiotik sebagai bagian dari pencegahan penyakit alergi saluran napas.

1.4.2 Manfaat praktis

Menambah informasi mengenai pengaruh *Lactobacillus plantarum* IS-10506 yang merupakan probiotik galur asli Indonesia terhadap ekspresi protein penyusun *tight junctions*, kadar sitokin Th1/Th2/Th17, IgE dan IgA spesifik Der p pada pencegahan inflamasi alergi saluran napas sehingga dapat dipertimbangkan sebagai suplementasi alternatif pada pencegahan penyakit alergi saluran napas.