

**DISERTASI**

***LACTICASEIBACILLUS RHAMNOSUS STRAIN GORBACH-GOLDIN  
(GG) SEBAGAI MODULATOR RESPON IMUN MELALUI EKSPRESI  
MESSENGER RIBONUKLEAT (mRNA) TUMOR NECROSIS FACTOR  
ALPHA (TNF-a) dan INTERLEUKIN 10 (IL-10) TERHADAP  
PERTUMBUHAN KLEBSIELLA PNEUMONIAE***



**EDWARD PANDU WIRIANSYA**

**C013201013**

**PROGRAM DOKTOR ILMU KEDOKTERAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2024**

**DISERTASI**

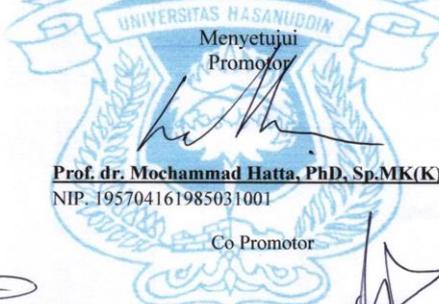
**LACTICASEIBACILLUS RHAMNOSUS STRAIN GORBACH-GOLDIN  
(GG) SEBAGAI MODULATOR RESPON IMUN MELALUI EKSPRESI  
MESSENGER RIBONUKLEAT (mRNA) TUMOR NECROSIS FACTOR  
ALPHA (TNF- $\alpha$ ) dan INTERLEUKIN 10 (IL-10) TERHADAP  
PERTUMBUHAN KLEBSIELLA PNEUMONIAE**

Disusun dan diajukan oleh

**EDWARD PANDU WIRIANSYA**

**C013201013**

*Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Ujian Promosi Doktor dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 4 Desember 2024  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*



Menyetujui  
Promotor

**Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, Sp.MK(K)**

NIP. 195704161985031001

Co Promotor

**Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K), FISR, MHPE**  
NIP. 197206172000122000

Co Promotor

**Prof. dr. Agussalim Bukhari, M.ClinMed, PhD, Sp.GK(K)**  
NIP. 197008211999031001

Ketua Program Studi Doktor  
Ilmu Kedokteran,

**Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes**  
NIP. 196711031998021001

a.n. Dekan Fakultas Kedokteran  
Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan,

**Prof. dr. Agussalim Bukhari, M.Clin.Med, PhD, Sp.GK(K)**  
NIP. 197008211999031001

## PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Edward Pandu Wiriansya

Nomor Pokok : C013201013

Program Studi : Doktor (S3) Ilmu Kedokteran FK Unhas

Menyatakan dengan ini karya tulis (disertasi) saya yang berjudul :

*LACTICASEIBACILLUS RHAMNOSUS STRAIN GORBACH-GOLDIN (GG) SEBAGAI MODULATOR RESPON IMUN MELALUI EKSPRESI MESSENGER RIBONUKLEAT (mRNA) TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA (TNF-a) dan INTERLEUKIN 10 (IL-10) TERHADAP PERTUMBUHAN KLEBSIELLA PNEUMONIAE.*

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 November 2024

Yang Membuat Pernyataan,



Edward Pandu Wiriansya

## KATA PENGANTAR

Dengan penuh rasa syukur, penulis mengucapkan terima kasih kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan petunjuk-Nya, sehingga penelitian ini yang berjudul: “***Lactocaseibacillus rhamnosus strain Gorbach-Goldin (GG)*** sebagai **Modulator Respon Imun melalui Ekspresi Messenger Ribonukleat (mRNA) Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) dan Interleukin 10 (IL-10)** terhadap **Pertumbuhan *Klebsiella Pneumoniae***” dapat diselesaikan.

Dengan penuh rasa hormat dan kasih sayang, penulis mempersembahkan segala bentuk bakti kepada kedua orang tua dan mertua tercinta. Ayahanda Almarhum AKBP Daharu, Ayahanda Drs. H. Dewa Bochari, Ibunda Dra. Laksmiaty Djamarin, dan Ibunda Hj. Rosmiati, atas doa, dukungan, kesabaran, pengertian, dan pengorbanan yang luar biasa, yang telah membantu penulis menjadi seperti sekarang ini. Terima kasih juga kepada istri tercinta dr. Andi Puspa Ratu, Sp.PD, serta adik-adik saya: dr. Indha Andikha, S.Ked, dr. Yusniar Nur, S.Ked, dr. Puput Wirianti Pratiwi, S.Ked, dr. Dzul Ikram, Sp.PA, dr. Fadhlán Aulia Budiamin, S.Ked, dr. Muh. Naufal Zuhair, S.Ked, dr. Muh. Fakhri, S.Ked, dan Izhar Fitrah Ahmad, atas semangat serta doa dan dukungan yang tak ternilai harganya.

Penyusunan disertasi ini tidak lepas dari bimbingan dan motivasi dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih yang mendalam penulis sampaikan kepada **Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK (K)** selaku Promotor, **Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P (K), FISR, MHPE**, dan **Prof. dr. Agussalim Bukhari, Ph.D, Sp.GK (K)** selaku Co-Promotor, yang dengan penuh kesabaran meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan serta arahan yang sangat berharga dari awal hingga akhir proses penulisan disertasi ini.

Melalui kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi – tingginya kepada:

1. Bapak **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc** selaku Rektor Universitas Hasanuddin
2. Ibu **Prof. Dr.dr. Haerani Rasyid, M.Sc, Sp.PD-KGH, Sp.GK, FINASIM** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
3. Bapak **Prof. dr. Agussalim Bukhari, Ph.D, Sp.GK (K)** sebagai wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
4. Bapak **dr. Firdaus Hamid, S.Ked, Ph.D, Sp. MK (K)** sebagai wakil Dekan Bidang Perencanaan, Sumber Daya, dan Alumni Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin sekaligus Penguji yang dengan sabar memberikan arahan dan dorongan dalam menyelesaikan Disertasi ini
5. Bapak **Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, M.K.M** sebagai wakil Dekan Bidang Kemitraan, Riset, dan Inovasi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
6. Ibu **Dr. dr. Rina Masadah, Sp.PA (K), M.Phil, DFM** sebagai wakil Dekan Bidang Publikasi, Pengabdian dan Urusan Internasional Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
7. Bapak **Dr.dr. Irfan Idris, M.Kes** selaku Ketua Program Studi Doktor Kedokteran Universitas Hasanuddin
8. Bapak **Prof. Dr. dr. Muhammad Amin, Sp.P (K)** selaku Penguji yang dengan sabar memberikan arahan dan dorongan dalam menyelesaikan Disertasi ini
9. Ibu **Prof. dr. Muhammad Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK (K)** selaku Penguji yang dengan sabar memberikan arahan dan dorongan dalam menyelesaikan Disertasi ini
10. Bapak **Dr. dr. Muhammad Harun Iskandar, Sp.PD.K-P, Sp.P (K)** selaku Penguji yang dengan sabar memberikan arahan dan dorongan dalam menyelesaikan Disertasi ini

11. Dosen dan Staf Program S3 Kedokteran yang telah dengan sabar memberikan pengarahan yang tiada henti – hentinya dan dorongan baik spiritual dan materil sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini
12. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi Fakultas Kedokteran Unhas beserta seluruh Dosen, Staf dan Residen atas doa, motivasi dan bantuannya selama penelitian dan dalam tahap penyelesaian Disertasi ini
13. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ketua Pembina Yayasan Wakaf UMI Prof. Dr. H. Mansyur Ramly, SE, M.Si, Ketua Pengurus Yayasan Wakaf UMI Prof. Dr. Hj. Masrura Mokhtar, MA, Plt. Rektor Universitas Muslim Indonesia Prof. Dr. H. Hambali Thalib, SH, MH, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muslim Indonesia Dr. dr. H. Nasrudin A. Mappaware, Sp. OG (K), MARS, M.Sc yang telah memberikan kesempatan melanjutkan pendidikan di Program Studi S3 Kedokteran Universitas Hasanuddin, dan bantuan selama penelitian
14. Penulis mengucapkan terima kasih kepada jajaran Direksi Rumah Sakit Ibnu Sina YW-UMI dr. Aryanti R. Bamahry, Sp.GK(K), dr. Salahuddin A. Palloge, MPH., Dr. dr. Dian Amelia Abdi, Sp.DVE, dr. Syamsu Rijal, Sp.PA., yang telah memberikan semangat dan dukungan selama masa studi sampai selesai
15. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Laboratorium Chr. Hansen Denmark, yang telah membantu selama penelitian berjalan hingga selesainya disertasi ini.
16. Terima Kasih kepada teman Angkatan 2020 batch 1 S3 Ilmu Kedokteran FK UNHAS yang telah memberikan semangat, serta memberikan dukungan dalam penyusunan disertasi ini.

17. Terima Kasih kepada adinda dr. Muh. Naufal Zuhair, S.Ked, dr. Muh. Fakhri, S.Ked, Izhar Fitrah Ahmad atas doa, motivasi dan semua bantuan selama masa studi sampai selesai.
18. Terima kasih kepada Staf Dosen Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Muslim Indonesia dr. Syamsu Rijal, Sp.PA, M.Kes, dr. Arina Fatiyah Arifin, M.Kes, dr. Dzul Ikram, Sp.PA, dr. Andi Husni Esa, Sp.A, dan dr. Rezky Pratiwi L Basri, S.Ked, atas doa, motivasi, serta bantuan dari awal masa studi sampai selesai.
19. Terima kasih kepada Staf Dosen Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Muslim Indonesia dr. Indah Lestari, Sp.PD, dr. Prema Hapsari Hidayah, Sp.PD, dr. Andi Kartini Eka, Sp.PD, dr. Dara Riani, Sp.PD, dr. Dwi Anggita, Sp.P, dr. Pratiwi Nasir Hamza, Sp.PD, dr. Jabal Nur, Sp.PD, dr. Abdul Mubdi, Sp.PD, atas doa, motivasi, serta bantuan dari awal masa studi sampai selesai.

Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada semua pihak yang namanya tidak tercantum dalam prakata ini, namun yang telah memberikan banyak dukungan dan bantuan dalam menyelesaikan disertasi ini. Semoga Allah SWT memberikan pahala yang berlimpah dan balasan terbaik bagi setiap kebaikan yang telah mereka berikan.

Penulis berharap disertasi ini dapat memberikan manfaat yang luas dan kemaslahatan bagi banyak orang. Selain itu, penulis juga sangat menghargai setiap saran, bimbingan, dan kritik yang membangun untuk penyempurnaan hasil penelitian ini. Akhir kata, penulis memohon kepada Allah SWT, agar segala usaha dan kerja keras yang dilakukan dalam penyusunan disertasi ini senantiasa diberkahi dan memperoleh ridho-Nya, serta memberi manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 20 November 2024

Penulis

**EDWARD PANDU WIRIANSYA**

## ABSTRAK

EDWARD PANDU WIRIANSYA. *Lactacaseibacillus Rhamnosus Strain Gorbach-Goldin (Gg)* sebagai Modulator Respon Imun Melalui Ekspresi Messenger Ribonukleat (Mrna) Tumor Necrosis Factor Alpha (Tnf-A) dan Interleukin 10 (Il-10) terhadap Pertumbuhan *Klebsiella Pneumoniae* (dibimbing Oleh Mochammad Hatta, Irawaty Djaharuddin, dan Agussalim Bukhari).

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efek *Lactacaseibacillus Rhamnosus Strain Gorbach-Goldin* (LGG) sebagai modulator respon imun melalui ekspresi mRNA TNF-a dan IL-10 terhadap pertumbuhan *K. pneumoniae*. *Pneumonia* yang disebabkan oleh *klebsiella pneumoniae* merupakan salah satu masalah kesehatan yang signifikan dengan tingkat kematian yang tinggi meskipun telah ada perkembangan dalam terapi antibiotik. Resistensi antibiotik yang luas pada *K. pneumoniae* memperburuk masalah ini. Penelitian ini menggunakan desain eksperimental dengan subjek mencit BALB/c yang dibagi menjadi beberapa kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan diberikan probiotik *lactacaseibacillus rhamnosus* LGG, baik secara preventif maupun kuratif, dengan atau tanpa tambahan antibiotik *levofloxacin*. Ekspresi mRNA TNF-a dan IL-10 diukur menggunakan RT-PCR, dan pertumbuhan koloni *K. pneumoniae* dievaluasi melalui kultur jaringan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian *lactacaseibacillus rhamnosus* LGG secara signifikan menurunkan ekspresi mRNA TNF-a ( $p < 0.05$ ) dan meningkatkan ekspresi IL-10 ( $p < 0.05$ ) dibandingkan kelompok kontrol. Kelompok yang diberikan kombinasi LGG dan *levofloxacin* menunjukkan pengurangan pertumbuhan koloni *K. pneumoniae* yang lebih signifikan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan kelompok lainnya. Dapat disimpulkan bahwa *lactacaseibacillus rhamnosus* LGG efektif sebagai modulator respon imun yang dapat mengurangi peradangan dan menghambat pertumbuhan *K. pneumoniae*. Kombinasi probiotik dengan antibiotik dapat menjadi strategi yang efektif dalam menangani infeksi pneumonia yang resisten terhadap antibiotik.

Kata kunci: *klebsiella pneumoniae*, *lactacaseibacillus rhamnosus* GG, TNF-a, IL-10, probiotik, antibiotik



## ABSTRACT

EDWARD PANDU WIRIANSYA. *Lacticaseibacillus Rhamnosus Strain Gorbach-Goldin (Gg) as a Modulator of Immune Response through Messenger Ribonukleat (Mma) Expression of Tumor Necrosis Factor Alpha (Tnf-A) and Interleukin 10 (Il-10) on Growth of Klebsiella Pneumoniae* (supervised by Mochammad Hatta, Irawaty Djaharuddin, Agussalim Bukhari)

The research aims to evaluate the effect of the *Lacticaseibacillus rhamnosus* strain Gorbach- Goldin (LGG) as the immune response modulator through mRNA expression of TNF-a and IL-10 towards the growth of *K. pneumoniae*. Pneumonia caused by the *Klebsiella pneumoniae* is the significant health problem with the high mortality rate, despite advancements in the antibiotic therapy. The extensive antibiotic resistance in *K. pneumoniae* exacerbates the issue. **Methods:** This experimental study used BALB/c mice divided into various treatment groups. The treatment groups were given the probiotic *Lacticaseibacillus rhamnosus* LGG, both preventively and curatively, with or without the addition of the antibiotic Levofloxacin. The mRNA expression of TNF-a and IL-10 was measured using RT-PCR, and the growth of *K. pneumoniae* colonies was evaluated through the tissue culture. **Results:** The results indicate that the administration of the *Lacticaseibacillus rhamnosus* LGG significantly decreases mRNA expression of TNF-a ( $p < 0.05$ ) and increased IL-10 expression ( $p < 0.05$ ) compared to the control group. The group receiving the combination of LGG and Levofloxacin shows the more significant reduction in the growth of *K. pneumoniae* colonies ( $p < 0.05$ ) compared with the other groups. **Conclusion:** *Lacticaseibacillus rhamnosus* LGG is effective as the immune response modulator that can reduce the inflammation and inhibit the growth of *K. pneumoniae*. The combination of the probiotics with the antibiotics can be the effective strategy in managing the antibiotic-resistant pneumonia infections.

Key words: *Klebsiella pneumoniae*, *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG, TNF-a, IL-10, probiotic, antibiotic



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN DISERTASI .....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT .....	iError! Bookmark not defined.
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR SINGKATAN .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	6
1.3. Tujuan Penulisan .....	6
1.3.1. Tujuan Umum.....	6
1.3.2. Tujuan Khusus .....	6
1.4. Manfaat Penulisan .....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	8
2.1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	8
2.1.1 Epidemiologi .....	8
2.1.2 Klasifikasi .....	9
2.1.3. Karakteristik .....	9
2.1.4. Patogenitas .....	10
2.1.5 Terapi.....	12
2.4. Kerangka Teori .....	44
2.5. Kerangka Konsep .....	44
2.6. Hipotesis Penelitian .....	45
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	46
3.1 Rancangan Penelitian.....	46
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	46

3.3 Populasi Penelitian .....	46
3.4. Sampel Penelitian.....	46
3.4.1. Besaran sampel .....	46
3.4.2. Kriteria sampel .....	48
3.5. Izin Penelitian dan Kelayakan Etik.....	48
3.6. Prosedur Kerja.....	49
3.6.1. Alat dan Bahan Penelitian .....	49
3.6.2. Cara Kerja .....	49
3.7. Definisi Operasional.....	63
3.8. Pengolahan Data dan Analisa Data.....	63
3.9. Alur Penelitian.....	64
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>65</b>
4.1. Karakteristik sampel .....	65
4.2. Perbandingan kadar TNF- $\alpha$ dan IL-10 antarkelompok.....	68
4.3. Ekspresi mRNA TNF- $\alpha$ dan IL-10 terhadap Pertumbuhan Koloni <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	73
<b>BAB V PEMBAHASAN .....</b>	<b>76</b>
<b>BAB VI PENUTUP.....</b>	<b>86</b>
6.1. Kesimpulan.....	86
6.2. Saran .....	87
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>89</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>99</b>

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
Gambar 2.1. Faktor Virulensi <i>K. Pneumoniae</i>	11
Gambar 2.2. Microflora usus	21
Gambar 2.3. Mekanisme aksi probiotik	24
Gambar 2.4. Mekanisme aksi probiotik strain bakteri dalam sistem imun mukosa usus	28
Gambar 2.5. Efek dan mekanisme probiotik & prebiotik dalam sumbu usus-paru dan konteks infeksi pernapasan Mekanisme <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> dalam proses imunitas tubuh.	30
Gambar 2.6. <i>Lacticaseibacillus rhamnosus GG</i> pada pewarnaan gram	37
Gambar 2.7. <i>Lacticaseibacillus rhamnosus GG</i> pada mikroskop elektron	37
Gambar 2.8. Mekanisme <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> dalam proses imunitas tubuh	38
Gambar 3.1. Alur Penelitian	63
Gambar 4.1. Perbandingan rerata kadar TNF- $\alpha$ antarkelompok	68
Gambar 4.2. Perbandingan rerata kadar IL-10 antarkelompok	69

## DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
Tabel 1.	Ringkasan kelas antibiotik yang umumnya digunakan pada infeksi <i>K. pneumoniae</i>	18
Tabel 2.	Beberapa mikroorganisme probiotik (Toma M, 2006)	22 42
Tabel 3.	Ringkasan hasil studi preklinis dan klinis <i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> terhadap infeksi bakteri pada paru	61
Tabel 4.	Definisi Operasional	
Tabel 5.	Kadar TNF- $\alpha$ pada setiap kelompok	65
Tabel 6.	Kadar IL-10 pada setiap kelompok	66
Tabel 7.	Karakteristik Kultur Jaringan Paru pada setiap kelompok perlakuan	66
Tabel 8.	Korelasi antara ekspresi mRNA TNF- $\alpha$ dan IL-10 dengan pertumbuhan <i>Klebsiella pneumoniae</i>	71
Tabel 9.	Hasil Uji Regresi Logistik antara ekspresi mRNA TNF- $\alpha$ dan IL-10 terhadap pertumbuhan koloni <i>Klebsiella pneumoniae</i>	72
Tabel 10.	Uji normalitas shapiro wilk analisis perbandingan kadar TNF- $\alpha$ antarkelompok	96
Tabel 11.	Uji normalitas shapiro wilk analisis perbandingan kadar IL-10 antarkelompok	97
Tabel 12.	Perbandingan rerata kadar TNF- $\alpha$ antarkelompok	98
Tabel 13.	Perbandingan rerata kadar IL-10 antarkelompok	99
Tabel 14.	Estimasi rata-rata kadar TNF- $\alpha$ pada setiap kelompok	100
Tabel 15.	Estimasi rata-rata kadar IL-10 pada setiap kelompok	101

## DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Arti/Keterangan
AAD	Antibiotic-associated dysbiosis
AMP	Adenosine Monocyclic
BAL	Bronchoalveolar Lavage
BALB/c	Bagg Albino c
Breg	B regulator
CD	Cluster Differentiation
CFU	Colony Forming Unit
cKp	Classic <i>Klebsiella pneumoniae</i>
CPS	Capsul Polysaccharide
CRE	Carbapenem resistant Enterobacteriaceae
DC	Dendritic Cells
DNA	Deoxyribonucleic Acid
EDTA	Ethylen Diamine Tetra Acetate
EMB	Eosin Methilene Blue
ESBL	Extended-spectrum Beta Lactamase
FAO	Food and Agriculture Organization
FOS	Fruktooligosakarida
Foxp3+	Forkhead Box P3+
GIT	Gastrointestinal Tract
GPCRs	G Protein-coupled Receptors
GuSCN	Guanidium Thyocyanate
HAP	Hospital Acquired Pneumonia
HSP-27	Heat Shock Protein 27
hvKp	Hypervirulence <i>Klebsiella pneumoniae</i>
ICU	Intensive Care Unit
IDSA	Infectious Disease Society of America

IFN-b	Interferon beta
IFN-y	Interferon gamma
IgG	Immunoglobulin G
IgM	Immunoglobulin M
IL	Interleukin
IMP	Imipenemase
ISK	Infeksi Saluran Kemih
KP	Klebsiella pneumoniae
KPC	Klebsiella pneumoniae Carbapenemase
LAB	Lactic Acid Bacteria
LGG	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> Gorbach-Goldin
LPS	Lipopolisakarida
Ly6C	Lymphocyte 6 C
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinase
MBL	Metallo-beta-lactamase
MCP-1	Monocyte Chemotactic Protein 1
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid
NF-κB	Nuclear Factor Kappa B
NK	Natural Killer cell
NLRs	NOD-like Receptor
NOD	Nucleotide Oligomerization Domain
OMPs	Outer Membrane Proteins
PAMP	Pathogen-associated Molecular Patterns
PLA	3-phenyllactic Acid
PRRs	Pattern Recognition Receptors
RSV	Respiratory Syncytial Virus
RT-PCR	Real Time-Polymerase Chain Reaction
SARI	Severe Acute Respiratory Infection
SCFA	Short Chain Fatty Acid

TEM	Transmission Electron Microscope
TGF	Tumor Growth Factor
Th	T helper
TLRs	Toll-like Receptor
TNF-a	Tumor Necrosis Factor alpha
Treg	T regulator
VAP	Ventilated Acquired Pneumonia
VIM	Verona integron-encoded MBL
WHO	World Health Organization
ZDI	Zone Diameter Inhibition

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Infeksi saluran pernapasan akut (ISPA) merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas akibat penyakit menular di dunia. Menurut laporan dari World Health Organization (WHO) bahwa hampir 4 juta orang meninggal akibat ISPA setiap tahun dengan 98% kematian ini disebabkan oleh infeksi saluran pernapasan bawah (1). Pneumonia adalah infeksi paru yang menyebabkan cairan eksudatif menumpuk di parenkim paru sehingga terjadi peradangan dan konsolidasi di daerah tersebut (2).

Berdasarkan etiologinya, pneumonia dapat disebabkan oleh bakteri, data dari beberapa rumah sakit di Indonesia tahun 2012 menunjukkan bahwa penyebab terbanyak pneumonia komunitas di ruang rawat inap dari bahan sputum adalah kuman gram negatif seperti *Klebsiella pneumoniae*, *Accinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* sedangkan gram positif seperti *Streptococcus pneumoniae*, dan *Streptococcus aureus* ditemukan dalam jumlah sedikit. Hal ini menunjukkan bahwa dalam 10 tahun terakhir terjadi perubahan pola kuman pada pneumonia komunitas di Indonesia, hingga memerlukan penelitian lebih lanjut (3)

Berdasarkan data Survelans Sentinel SARI (*Severe Acute Respiratory Infection*) 2010 yang dilakukan oleh Badan penelitian dan

Pengembangan Kesehatan RI diperoleh data terbanyak dari hasil biakan sputum yaitu *Klebsiella pneumoniae* (29%), dibandingkan dengan jenis bakteri lainnya (4).

*Klebsiella pneumoniae* adalah salah satu bakteri gram negatif yang menyebabkan penyakit yang umum didapatkan di Rumah sakit seperti Pneumonia, bakteremia, infeksi saluran kemih, abses hati, dan infeksi luka pada pasien dengan gangguan kekebalan (5). Pneumonia yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* sangat terkait dengan angka kematian yang tinggi di dunia. Faktanya, meskipun antibiotik spektrum luas telah berkembang, namun angka kematian masih tinggi yaitu lebih dari 50 % pasien telah dilaporkan yang terinfeksi *Klebsiella pneumoniae* (6). Hal tersebut disebabkan karena *Klebsiella pneumoniae* adalah bakteri yang sudah mengalami resistensi terhadap minimal satu antibiotik dari tiga atau lebih golongan antibiotik, telah diketahui bahwa lebih dari 80% pada antibiotik penicillin, sefalosporin, makrolida, tetrasiklin, sulfonamid, lincosamid dan kloramfenikol (7). Di Indonesia, berdasarkan data RISKESDAS 2018 prevalensi Pneumonia adalah sekitar 2,0% sedangkan pada tahun 2013 adalah 1,8%, sehingga mengalami peningkatan sebanyak 0,2%. Penyebab pneumonia komunitas terbanyak di Indonesia adalah kuman gram negatif salah satunya yaitu *Klebsiella pneumoniae* (8).

Sejauh ini penanganan penyakit pneumonia dilakukan dengan pemberian terapi antimikrobal secara intravena, intramuskular, dan

oral. Saat ini, dengan banyaknya kasus penderita pneumonia yang mengalami kesulitan dalam pemberian antimikroba secara intravena dan intramuskular, maka cenderung terapi menggunakan antibiotik oral baik secara total maupun parsial. Hal ini disebabkan karena terapi antimikrobal oral telah menghapus kebutuhan akses vena dan pasien lebih cepat dipulangkan dari rumah sakit dan memberikan kesempatan kepada pasien untuk tetap berada di rumah perawatan dalam menyelesaikan rangkaian terapi. Hal ini juga dapat meminimalisir pasien untuk tidak terinfeksi kembali pneumonia di rumah sakit atau *Hospital Acquired Pneumonia* (HAP) (9)

Namun, dalam pemberian antibiotik oral dapat menyebabkan toksisitas jika dosis obat yang diberikan terlalu tinggi dan apabila dosis yang diberikan terlalu rendah serta waktu pemberian antibiotik yang tidak tepat dapat mengakibatkan *outcome* terapi tidak dapat tercapai. Sehingga, perlu diperhatikan ketepatan dosis dan interval pemberian antibiotik (9). Selain itu, pemberian antibiotik menimbulkan beberapa efek samping, khususnya bagi pasien yang mengalami alergi obat seperti penicillin dan sulfonamides. Reaksi alergi dapat berupa dema dan lesi makulopapula kemerahan. Pasien pneumonia yang disertai dengan penyakit hati berat juga perlu diberikan penanganan khusus yang membutuhkan antibiotik yang sedikit dieliminasi dan diinaktivasi di hati dalam dosis hariannya (9).

Sehingga, dengan adanya efek samping dalam pemberian antibiotik, maka WHO menyarankan dilakukan penelitian untuk mengatasi infeksi khususnya pada bakteri yang kebanyakan resisten terhadap penicillin agar penyakit pneumonia ini dapat diberikan penanganan yang efektif (10). Salah satu metode penanganan terbaru terhadap pneumonia adalah dengan probiotik. Dalam satu meta analisis yang dilakukan pada tahun 2020 melaporkan bahwa penggunaan probiotik dapat menurunkan kejadian pneumonia (11). Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang berpotensi memberikan manfaat kesehatan pada tubuh. Probiotik muncul sebagai strategi baru secara biologis untuk mengobati atau mencegah berbagai kondisi infeksi, inflamasi, dan autoimun. Mekanisme manfaat yang ditawarkan oleh probiotik seperti peningkatan fungsi *barrier* mukosa usus, penghambatan kompetitif bakteri patogen, dan modulasi respon imun sel inang. Dilaporkan bahwa probiotik dapat menurunkan kejadian VAP 18% dan infeksi nosokomial 25% (12).

Dalam beberapa dekade ini, beberapa laporan hasil penelitian menunjukkan inkonsistensi manfaat dari probiotik dalam memecahkan masalah khususnya pada kejadian pneumonia. Salah satu penelitian *randomized clinical trial* menunjukkan tidak ada perubahan yang berarti pada pasien VAP yang telah diberikan probiotik *Lactocaseibacillus rhamnosus GG* (13), *Lactocaseibacillus rhamnosus* sebagai modulator respon imun dan meningkatkan produksi sel T regulator yang akan

mengurangi cedera pada jaringan paru. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan penggunaan (14,15).

*Lactocaseibacillus rhamnosus* GG (*L. rhamnosus*) yang sebelumnya dikenal sebagai *Lactocaseibacillus rhamnosus* termasuk kelompok *Lactic Acid Bacteria* (LAB) yang dikategorikan sebagai probiotik utama pada kasus resistensi antibiotik. *Lactic Acid Bacteria* memiliki patogenisitas yang rendah dan memberikan berbagai manfaat pada kondisi kesehatan tubuh seperti pengurangan kadar kolesterol serum, peningkatan fungsi gastrointestinal, peningkatan sistem kekebalan tubuh, dan pengurangan risiko kanker usus besar (16). *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG dapat mensekresikan enzim *D-lactate dehydrogenase* yang berperan penting dalam pembentukan asam fenil laktat dari fenilpiruvat. Asam fenillaktat adalah antimikroba biologis alami yang telah terbukti efektif menekan aktivitas *Klebsiella* sp. (17). Pada hasil studi yang dilakukan oleh Fangous et al pada tahun 2019 yang menguji *L. rhamnosus* GG pada tikus yang terinfeksi *pseudomonas aeruginosa* didapatkan bahwa adanya peningkatan kelangsungan hidup, penurunan jumlah bakteri pada BAL, penurunan kadar IL-6, peningkatan kadar IL-10, dan meningkatkan kadar Treg Foxp3+ dimana akan menurunkan kadar TNF- $\alpha$  sebagai sel proinflamasi. (18).

Probiotik masih menimbulkan pro dan kontra dalam penggunaannya. Namun, pada penelitian ini diharapkan probiotik dapat

berperan langsung sebagai tindakan preventif dan kuratif yang disajikan bersama dengan antibiotik definitif untuk *Klebsiella pneumoniae*. Maka dari itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai efektivitas pemberian probiotik utamanya *L. rhamnosus* terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* melalui mekanisme peradangan TNF- $\alpha$  dan IL-10.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Bagaimana efek pemberian *Lacticaseibacillus rhamnosus* terhadap ekspresi mRNA Gen TNF- $\alpha$ , IL-10 dan pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada mencit Balb/c?

## **1.3. Tujuan Penulisan**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian *Lacticaseibacillus rhamnosus* terhadap ekspresi mRNA Gen TNF- $\alpha$ , IL-10 dan pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1. Melihat perbandingan ekspresi mRNA Gen TNF- $\alpha$  dan IL-10 pada pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* setelah pemberian *Lacticaseibacillus rhamnosus* pada mencit BALB/c.
2. Melihat hubungan ekspresi mRNA Gen TNF- $\alpha$  dan IL-10 dengan pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* setelah pemberian *Lacticaseibacillus rhamnosus* pada mencit BALB/c.

#### **1.4. Manfaat Penulisan**

##### **1. Institusi**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada kalangan akademisi medis dan tenaga medis mengenai efek pemberian probiotik terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*.

##### **2. Masyarakat**

Hasil penelitian ini diharapkan bisa memberikan informasi dan memperkenalkan probiotik khususnya penggunaan dan efektivitas probiotik LGG kepada masyarakat.

##### **3. Perkembangan Ilmu Pengetahuan**

Hasil penelitian ini merupakan kebaruan terkait penanganan infeksi klebsiella pneumonia dengan memanfaatkan probiotik sebagai metode preventif, kuratif dan supportif antibiotik defenitif yang diharapkan membantu perkembangan ilmu pengetahuan khususnya pada bidang pengobatan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Klebsiella pneumoniae*

##### 2.1.1 Epidemiologi

*Klebsiella pneumoniae* adalah salah satu bakteri yang telah lama diketahui sebagai patogen pada tubuh manusia. Bakteri ini dapat menimbulkan manifestasi klinis seperti pneumonia, sepsis, mastitis, infeksi saluran kemih, meningitis, dan abses purulent pada beberapa area. Namun, *Klebsiella pneumoniae* juga ada yang mempunyai sifat non patogenik yaitu *Klebsiella pneumoniae* yang merupakan flora normal pada tubuh manusia serta hidup bebas di tanah, air dan tanaman. *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri patogen oportunistik, yang artinya walaupun ada yang memiliki sifat non patogenik, namun akan menjadi patogen apabila sistem imunitas tubuh mengalami penurunan yang disertai faktor lingkungan yang mendukung (19).

Penyakit yang sering disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* antara lain, pneumonia, infeksi saluran kemih, dan bakteremia. Beberapa penyakit yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* tersebut biasanya ditemukan pada pasien neonatal, pasien dengan sistem imun yang terganggu dan pasien yang sedang mendapatkan perawatan intensif di ruang ICU (19).

### 2.1.2 Klasifikasi

*Klebsiella pneumoniae* merupakan salah satu famili dari *Enterobacteriaceae* dan digolongkan ke dalam bakteri koliform. Bakteri koliform adalah bakteri yang keberadaannya didasarkan oleh faktor lingkungan yang tercemar seperti air yang terkontaminasi feses (20). Adapun klasifikasi *Klebsiella pneumoniae* adalah sebagai berikut.

Kingdom : Bacteria  
Filum : Proteobacteria  
Kelas : Gamma proteobacteria  
Order : Enterobacteriales  
Famili : Enterobacteriaceae  
Genus : Klebsiella  
Spesies : *Klebsiella pneumoniae*

### 2.1.3. Karakteristik

*Klebsiella pneumoniae* merupakan salah satu spesies *Klebsiella sp.* yang berjenis gram negatif, anaerob fakultatif, dan nonmotil karena tidak mempunyai flagel namun mampu memfermentasikan laktosa. *Klebsiella pneumoniae* biasanya ditemukan pada traktus pernapasan dan pencernaan manusia. Selain itu, *K. pneumoniae* dapat ditemukan di lingkungan rumah sakit dalam jumlah yang banyak. *K. pneumoniae* hidup secara saprofit

dalam traktus pernafasan dan tinja manusia sebesar 5%, dengan rincian sekitar 1% dapat menimbulkan inflamasi pada paru (21) .

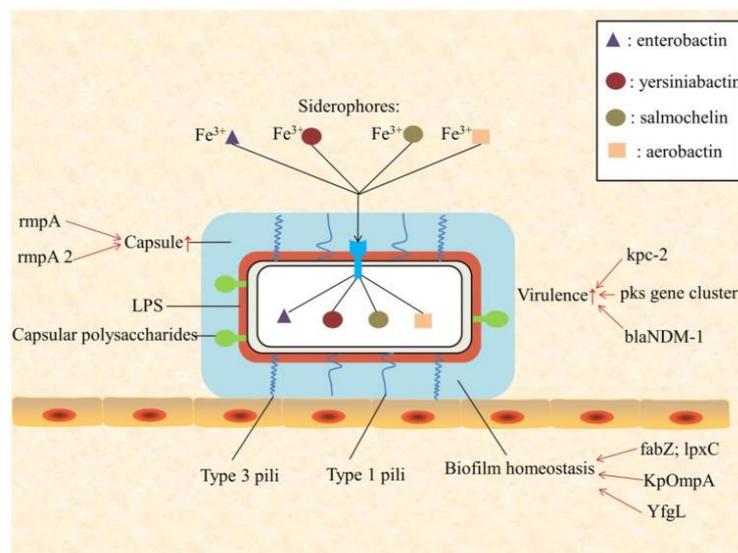
*Klebsiella pneumoniae* ditemukan pertama kali oleh Carl Friedlander yang merupakan mikrobiologis asal Jerman pada tahun 1882. *K. pneumoniae* dapat memberikan hasil positif pada tes dekarboksilase sitrat dan lisin, tapi pada tes indol hasilnya negatif. Koloni bakteri ini dapat dengan mudah dibiakkan dengan menggunakan media sederhana seperti bouillion agar, dengan ciri warna putih keabuan dan permukaan yang mengkilap. Selain itu, dapat juga dibiakkan pada media *Eosin Methilene Blue* (EMB) dan *McConkey* Agar dengan ciri tampilan warna merah muda. Berdasarkan morfologinya, bakteri ini berbentuk batang (*rod-shaped*) dengan ukuran panjang  $\leq 6 \mu\text{m}$  dan memiliki diameter  $\leq 10 \mu\text{m}$  (19).

#### **2.1.4. Patogenitas**

Faktor virulensi adalah faktor yang menjadi indikator *Klebsiella pneumoniae* untuk menyebabkan keparahan patogenitas, sedangkan patogenitas diartikan sebagai kemampuan *Klebsiella pneumoniae* dalam menyebabkan suatu penyakit. Patogenitas memiliki hubungan yang spesifik dengan faktor virulensi yang dimiliki oleh bakteri ini. Adapun faktor virulensi yang dimiliki oleh *Klebsiella pneumoniae* meliputi kapsul polisakarida (CPS), protein adhesin,

lipopolisakarida (LPS), dan eksotoksin ekstraselular (*siderophores*) (21).

Kapsul polisakarida (CPS) pada *K. pneumoniae* merupakan faktor virulensi yang paling dominan. Kapsul polisakarida ini terbagi atas 77 tipe serotif. Kapsul polisakarida memungkinkan bakteri untuk resistensi terhadap fagositosis oleh granulosit polimorfonuklear. Kapsul ini dapat melindungi *Klebsiella pneumoniae* dari desikasi oleh *bacterial serum factors*. *Klebsiella pneumoniae* memproduksi kapsul asam polisakarida yang kompleks, besar, berlendir yang memungkinkan bakteri ini untuk berkoloni pada traktus pernapasan dan traktus kemih manusia (21).



Gambar 2.1 Faktor Virulensi *K. Pneumoniae* (22)

Perlekatan pada permukaan epitel *host* merupakan langkah awal dari masa inkubasi dan kolonisasi dari *K. pneumoniae*.

Kemampuan perlekatan dari bakteri ini, dimediasi oleh berbagai tipe fimbriae atau protein adhesin. Fimbriae bakteri merupakan tabung protein polimer sel bakteri yang berperan sebagai mediator penting dalam interaksi antara bakteri dengan *host* dan bertahan pada lingkungan, motilitas, kolonisasi dan invasi pada sel *host*. Umumnya, fimbriae memiliki ukuran panjang hingga 10  $\mu\text{m}$  dan berdiameter 1-11  $\mu\text{m}$  (21).

### 2.1.5 Terapi

*Klebsiella pneumoniae* memiliki ketahanan terhadap beberapa antibiotik sebagai sifat yang dimediasi plasmid. Lama tinggal di rumah sakit dan pelaksanaan prosedur invasif adalah faktor risiko utama dari perkembangan strain dari *K. pneumoniae* ini. Pada umumnya, terapi awal pasien dengan kemungkinan bakteremia, diutamakan antibiotik empiris. Pemilihan agen antimikroba spesifik tergantung pada pola kerentanan lokal. Setelah bakteremia dikonfirmasi, pengobatan dapat dimodifikasi (23).

Agen dengan aktivitas intrinsik tinggi terhadap *K. pneumoniae* harus dipilih untuk pasien yang sakit parah. Contoh agen-agennya termasuk sefalosporin generasi ketiga (seperti cefotaxime, ceftriaxone), karbapenem (seperti imipenem/cilastatin), aminoglikosida (seperti gentamicin, amikasin), dan kuinolon. Agensi-agensi ini dapat digunakan sebagai monoterapi atau terapi kombinasi. Beberapa ahli merekomendasikan penggunaan

kombinasi aminoglikosida dan sefalosporin generasi ketiga sebagai pengobatan untuk isolat-isolat non-ESBL (*extended-spectrum beta lactamase*) yang dihasilkan. Namun, pendapat lain tidak setuju dan merekomendasikan monoterapi (23).

Ceftazidime/avibactam diindikasikan untuk mengobati orang dewasa dengan infeksi intra-abdominal yang rumit (dalam kombinasi dengan metronidazole) dan infeksi saluran kemih yang rumit, termasuk infeksi ginjal (pielonifritis), yang memiliki pilihan pengobatan alternatif terbatas atau tidak ada sama sekali. Ceftolozane/tazobactam dan ceftazidime/avibactam adalah dua antibiotik kombinasi beta-laktam/beta-laktamase baru yang tersedia. Ceftazidime/avibactam juga aktif terhadap Enterobacteriaceae tahan karbapenem yang menghasilkan *K. pneumoniae* karbapenemase. Inhibitor beta-laktamase karbapenem/beta-laktam baru, meropenem/vaborbactam (Vabomere), secara khusus mengatasi *Carbapenem resistant Enterobacteriaceae* (CRE) (misalnya, *E. coli*, *K pneumoniae*) dengan menghambat produksi enzim yang menghalangi antibiotik karbapenem, salah satu kelas obat yang lebih kuat dalam arsenal antibiotik (23,24).

Pada Agustus 2017, meropenem/vaborbactam disetujui oleh FDA untuk infeksi saluran kemih yang rumit (ISK) yang disebabkan oleh CRE. Persetujuan ini didasarkan pada data dari studi fase 3 multicenter, acak, ganda, dengan metode double-dummy, TANGO-I

(n=550) pada orang dewasa dengan ISK, termasuk yang dengan pielonifritis. Titik akhir utama adalah kesembuhan atau perbaikan secara keseluruhan dan hasil mikrobiologis dari eradikasi (didefinisikan sebagai patogen bakteri dasar yang berkurang menjadi < 10<sup>4</sup> CFU/mL). Data menunjukkan sekitar 98,4% pasien yang diobati dengan meropenem/vaborbactam intravena menunjukkan kesembuhan/perbaikan gejala dan hasil kultur urine yang negatif, dibandingkan dengan 94,3% pasien yang diobati dengan piperacillin/tazobactam. Sekitar satu minggu setelah pengobatan, sekitar 77% pasien yang diobati dengan meropenem/vaborbactam memiliki resolusi gejala dan hasil kultur urine yang negatif, dibandingkan dengan 73% pasien yang diobati dengan piperacillin/tazobactam (25).

Aztreonam dapat digunakan pada pasien yang alergi terhadap antibiotik beta-laktam. Kuinolon juga merupakan pilihan pengobatan efektif untuk isolat-isolat yang peka pada pasien dengan alergi terhadap karbapenem atau beta-laktam utama. Antibiotik lain yang digunakan untuk mengobati isolat-isolat yang peka termasuk ampicillin/sulbactam, piperacillin/tazobactam, ticarcillin/clavulanate, ceftazidime, cefepime, levofloxacin, norfloxacin, moxifloxacin, meropenem, dan ertapenem (23).

Pengobatan untuk *Klebsiella pneumoniae* memiliki hasil yang bervariasi. Untuk pasien dengan infeksi yang parah, pendekatan

yang bijak secara klinis adalah penggunaan terapi kombinasi awal (48-72 jam) dengan aminoglikosida, diikuti dengan beralih ke sefalosporin spektrum luas setelah kerentanannya dikonfirmasi (23).

IDSA (*Infectious Disease Society of America*) telah mengeluarkan suatu panduan mengenai bakteri gram negatif yang resisten terhadap antibiotik. Beta-laktamase bersifat konstitutif, biasanya diproduksi dalam kadar rendah, dan memberikan resistensi terhadap ampicillin, amoxicillin, dan ticarcillin. ESBL bersifat dimediasi plasmid, memberikan resistensi terhadap beberapa obat, dan dideteksi melalui resistensi in vitro terhadap ceftazidime dan aztreonam. Tipe ESBL, yang menghidrolisis ceftazidime jauh lebih sedikit daripada sefalosporin generasi ketiga dan keempat lainnya, lebih umum dan telah berkembang dalam garis keturunan *Escherichia coli* ST131. Karbapenemase *Klebsiella pneumoniae* (KPC; kelas A beta-laktamase Ambler) memberikan resistensi yang luas dan berhubungan dengan tingkat kematian yang lebih tinggi (>50%). Banyak isolat adalah satu tipe sekuens, ST258. Kerentanannya terbatas pada gentamicin, tigecycline, dan kolistin. Metallo-beta-laktamase (kelas B Ambler) termasuk imipenemase (IMP), *Verona integron-encoded MBL (VIM)*, dan NDM-1 dan umumnya resisten terhadap semua antibiotik kecuali tigecycline dan kolistin (26,27).

*Karbo-laktamase tipe OXA* (kelas D Ambler) termasuk OXA-48 dan menghidrolisis karbapenem dengan lemah, sefalosporin spektrum luas, dan aztreonam tetapi mengekspresikan resistensi atau kerentanan berkurang terhadap karbapenem. Isolat yang menghasilkan ESBL akan diobati dengan karbapenem. Isolat ini menghasilkan karbapenemase tahan terhadap karbapenem, penisilin, sefalosporin, fluorokuinolon, dan aminoglikosida. Pilihan pengobatan terbatas pada kolistin (terutama ISK), tigecycline, dan terkadang fosfomisin intravena. Pengobatan kombinasi dengan kolistin, tigecycline, dan karbapenem dapat meningkatkan kelangsungan hidup pada pasien dengan bakteremia. Pertimbangkan penetrasi obat pada jaringan seperti penetrasi paru untuk pneumonia dan konsentrasi urine untuk ISK. Untuk abses hati, drainase perkutan dapat dipertimbangkan (26,27).

Pengobatan untuk pneumonia sebaiknya mengikuti pedoman standar terapi antibiotik. Begitu infeksi dengan *K. pneumoniae* diduga atau dikonfirmasi, pengobatan antibiotik sebaiknya disesuaikan dengan sensitivitas antibiotik lokal. Regimen saat ini untuk *K. pneumoniae* yang didapat dari masyarakat melibatkan pengobatan selama 14 hari dengan baik sebagai monoterapi sefalosporin generasi ketiga atau keempat atau kuinolon pernapasan sebagai monoterapi, atau kombinasi dari kedua regimen sebelumnya dengan aminoglikosida. Jika pasien alergi terhadap

penisilin, maka pengobatan dengan aztreonam atau kuinolon pernapasan sebaiknya dilakukan. Untuk infeksi nosokomial, karbapenem dapat digunakan sebagai monoterapi sampai sensitivitasnya dilaporkan (28).

Ketika terdiagnosis ESBL, terapi karbapenem sebaiknya dimulai karena tingkat sensitivitasnya di seluruh dunia. Ketika terdiagnosis CRE (*Enterobacteriaceae* yang resisten terhadap karbapenem), sebaiknya diperoleh konsultasi penyakit menular untuk membimbing pengobatan. Beberapa pilihan antibiotik untuk mengobati CRE meliputi antibiotik dari kelas polimiksin, tigecycline, fosfomicin, aminoglikosida, atau terapi ganda karbapenem. Terapi kombinasi dari dua atau lebih agen seperti yang disebutkan sebelumnya, mungkin dapat mengurangi mortalitas dibandingkan dengan monoterapi saja (28). Beberapa antibiotik yang digunakan untuk melawan infeksi dari *K. pneumoniae* yang tercakup dalam **Tabel 1.**

Tabel 1. Ringkasan kelas antibiotik yang umumnya digunakan pada infeksi *K. pneumoniae*

Kelas antibiotik	Contoh antibiotik	Mekanisme aksi	Penggunaan umum
Karbapenem	Meropenem, Imipenem	Menghambat sintesis dinding sel bakteri	Infeksi serius, resisten terhadap antibiotik lain
Sefalosporin Generasi Ketiga	Ceftriaxone, Ceftazidime	Menghambat sintesis dinding sel bakteri	Infeksi saluran pernapasan, infeksi nosokomial
Fluorokuinolon	Ciprofloxacin, Levofloxacin	Menghambat DNA gyrase bakteri	Infeksi saluran kemih, infeksi saluran pernapasan
Aminoglikosida	Gentamicin, Amikacin	Menghambat sintesis protein bakteri	Kombinasi terapi untuk infeksi serius
Polimiksin	Colistin	Merusak membran sel bakteri	Infeksi resisten, opsi terakhir
Tigecycline	Tigecycline	Menghambat sintesis protein bakteri	Infeksi resisten, opsi terakhir

## 2.2. Probiotik

Probiotik pertama kali diperkenalkan oleh Lilley dan Stillwell pada tahun 1965 yang mendefinisikan probiotik sebagai mikroba yang menstimulasi pertumbuhan mikroba lainnya. Menurut *Food and Agriculture Organization* (FAO) dan WHO, probiotik adalah mikroorganisme hidup yang bila diberikan dalam jumlah yang memadai memberikan manfaat kesehatan pada *host* (29).

Lebih dari 100 tahun yang lalu, Pasteur dan Joubert, mengamati bahwa ada interaksi antagonistik antara beberapa jenis bakteri, dan mengatakan bakteri non patogen dapat mengontrol bakteri patogen. Metchnikoff melakukan observasi yang menunjukkan produk fermentasi susu dapat menghentikan proses pembusukan dan menganjurkan konsumsi produk ini untuk memberikan efek proteksi. Saat ini penelitian diarahkan terhadap penemuan berbagai jenis bakteri spesifik sebagai probiotik dan pengembangan zat yang meningkatkan pertumbuhan probiotik (29).

### **2.2.1 Definisi**

Ada banyak macam definisi probiotik yang dibuat, tapi yang banyak dipakai adalah yang dikemukakan oleh Fuller, yaitu bakteri hidup yang diberikan sebagai suplemen makanan yang mempunyai pengaruh yang menguntungkan terhadap kesehatan, baik pada manusia dan binatang dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora usus. Efek yang menguntungkan dari bakteri tersebut dapat mencegah dan mengobati kondisi patologis usus bila bakteri tersebut diberikan secara oral. Probiotik sering juga disebut sebagai *friendly colonizer* atau *friendly microorganism*. Ciri bakteri yang diklasifikasikan sebagai probiotik adalah: 1) berasal dari manusia, 2) secara alami tidak patogen, 3) tahan terhadap kerusakan waktu *processing*, 4) tahan terhadap asam lambung dan empedu, 5) dapat melekat pada epitel usus, 6) mampu melakukan

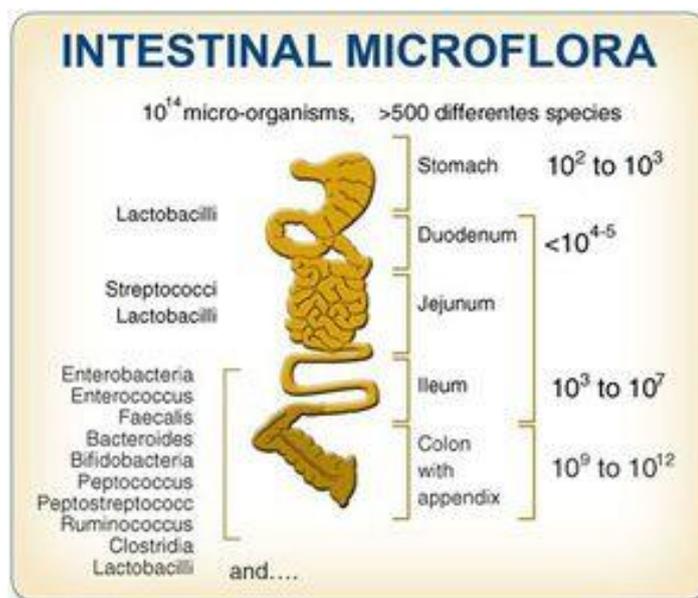
kolonisasi pada saluran gastrointestinal, 7) produksi substansi antimikrobal, 8) memodulasi respon imun terutama mukosa, 9) mempengaruhi aktifitas metabolik (30).

Prebiotik adalah *non-digestible food ingredient* yang menguntungkan manusia dengan menstimulasi pertumbuhan dan aktifitas satu atau sejumlah kecil bakteri di kolon. Food ingredient yang diklasifikasikan sebagai prebiotik, harus: 1) tidak dihidrolisis dan tidak diserap di bagian atas traktus gastrointestinal, 2) substrat yang selektif untuk satu atau sejumlah mikroflora komensal yang menguntungkan dalam kolon, jadi memicu pertumbuhan bakteri yang aktif melakukan metabolisme, 3) mampu merubah mikroflora kolon menjadi komposisi yang menguntungkan kesehatan. Kemungkinan yang lain untuk manajemen mikroflora adalah menggunakan sinbiotik, yaitu kombinasi probiotik dan prebiotik. Penambahan mikroorganisme hidup (probiotik) dan substrat (prebiotik) untuk pertumbuhan bakteri misalnya *fruktooligosakarida* (FOS) dengan *Bifidobakterium* atau *laktitol* dengan *Lactiseibacillus*. Keuntungan dari kombinasi ini adalah meningkatkan daya tahan hidup bakteri probiotik oleh karena substrat yang spesifik telah tersedia untuk fermentasi sehingga tubuh mendapat manfaat yang lebih sempurna dari kombinasi ini (31).

Probiotik dapat diperoleh dari makanan, minuman, dan sediaan murni. Produk makanan atau minuman probiotik adalah produk susu fermentasi (yogurt), keju, jus, dan susu bubuk bayi yang diperkaya probiotik (32).

### 2.2.2 Kolonisasi usus dan mikroorganisme probiotik

Kolonisasi flora usus (mikrobiota) manusia dimulai saat lahir dan dipengaruhi oleh komposisi diet. Proses kolonisasi tersebut melibatkan 47 interaksi antara mukosa saluran cerna dan stimulasi protein antigen dari kuman (33).



Gambar 2.2. Microflora usus

Proses kolonisasi saluran pencernaan setelah kelahiran menyebabkan serangkaian suksesi ekologi dengan hasil akhir pembentukan mikrobiota stabil (mikroflora) yang unik pada setiap individu. Mikrobiota dewasa stabil terdiri dari 400-1000 spesies, dimana 60% tidak di kultur diluar lingkungan saluran cerna. Mikroba

prokariotik dan eukariotik dapat ditemukan, pada saluran cerna bayi dengan dominasi oleh spesies bakteri, sebagian besar spesies bakteri anaerob (97%), sedangkan hanya 3% adalah aerobik (fakultatif anaerob). Komposisi mikrobiota tidak hanya berbeda sepanjang saluran pencernaan tetapi juga *cross sectional* dengan populasi yang berbeda yang mendiami mukosa saluran cerna dan lumen. Genera anaerobik yang paling umum dalam konsentrasi dalam saluran pencernaan adalah *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Clostridium* dan *Lacticaseibacillus*. Koloni mikrobiota aerob adalah bakteri Gram-negatif enteric (*Escherichia coli* dan *Salmonella spp.*) dan juga bakteri gram-positif cocci (*Enterococcus*, *Staphylococcus* dan *Streptococcus*). Selain bakteri aerob, spesies ragi aerobik, seperti *Candida albicans*, yang juga termasuk anggota mikrobiota normal (34). Berikut pada tabel 5 memperlihatkan beberapa mikroorganisme probiotik (35).

Tabel 2. Beberapa mikroorganisme probiotik (Toma M, 2006)

<i>Lacticaseibacillus</i> species	<i>Bifidobacterium</i> species	Other lactic acid bacteria	Non-Lactic acid bacteria
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. Adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> *	<i>Bacillus cereus</i> var.
<i>L. Amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>toyoi</i> *
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconstoc</i>	strain Nissle
<i>L. delbrueckii</i> subsp.	<i>B. infantis</i>	<i>mesenteroides</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>Bulgaricus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>pediococcus acidilactici</i>	<i>freudenreichii</i> *
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. longum</i>	<i>sporoLacticaseibacillus</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>L. gasseri</i>		<i>inulinus</i> *	<i>cerevisiae</i>
<i>L. Johnsonii</i>		<i>Streptococcus</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>L. paracasei</i>		<i>thermophilus</i>	<i>boulardii</i>
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

\*Main application for animal

### 2.2.3 Manfaat Probiotik

Probiotik telah dibuktikan efektif untuk pencegahan dan pengobatan terhadap bermacam-macam kelainan gastrointestinal, misalnya diare karena penggunaan antibiotik yang berlebihan, diare karena infeksi bakteri maupun virus, enteral feeding diare, defisiensi sukrase isomaltase, bakteri tumbuh lampau, intoleransi laktosa, dan *irritable bowel syndrome*. Bakteri probiotik yang sering digunakan untuk memperpendek diare adalah *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG, *Lacticaseibacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, dan *Enterococcus faecium*. Penggunaan *Lacticaseibacillus rhamnosus* strain GG (Gorbach-Goldin) dan bakteri probiotik yang lain untuk pencegahan diare oleh bakteri maupun virus tidak terlalu kuat bila dibandingkan penggunaannya untuk memperpendek diare. Probiotik *Lacticaseibacillus* dan *Bifidobacteria* menurunkan jumlah enzim mikroba feses seperti  $\beta$ -glukoronidase,  $\beta$ -glukosidase,

*nitroreduktase*, dan *urease* yang terkait dengan aktivasi metabolik dan karsinogen. Selain itu probiotik juga memiliki efek hipokolesterolemi (37-39) .

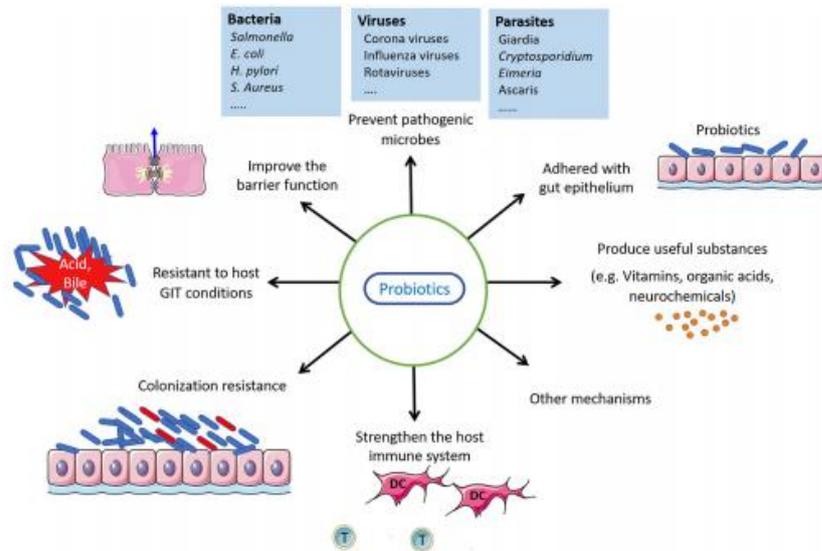
#### **2.2.4 Mekanisme Kerja Probiotik**

Mekanisme kerja probiotik sangat kompleks, heterogen dan spesifik terhadap strain probiotik seperti pengeluaran patogen secara kompetitif, memiliki kemampuan untuk berkolonisasi di usus, meningkatkan fungsi *barrier* usus dengan meningkatkan ekspresi protein *tight junction* dan mucin bersama dengan interaksi PAMP dengan PRRs, produksi AMP, dan memiliki fungsi dalam regulasi sistem imun. Beberapa mekanisme probiotik akan dibahas di bawah ini:

##### **A. Aspek pengeluaran patogen secara kompetitif**

Mekanisme kerja probiotik dalam pengeluaran patogen secara kompetitif mengacu pada suatu kondisi dimana satu spesies bakteri memiliki potensi yang besar dalam menempelkan dirinya pada epitel melalui reseptor daripada spesies lain. Saat ini diketahui, mekanisme pengeluaran patogen secara kompetitif utamanya menurunkan pH dalam lumen, melakukan penyerapan nutrisi dari kompetitor dan memproduksi AMP melawan kompetitor. Interaksi antar molekul terdistribusi dalam epitel usus dan permukaan bakteri memediasi adhesi serta kolonisasi bakteri. Bakteri kommensal atau probiotik menghasilkan molekul permukaan perekat (misalnya

*enolase*, *gliseraldehida-3-fosfat*, dan *piruvat dehidrogenase*) dan menempel pada matrik ekstraseluler dari host. Molekul permukaan perekat membantu bakteri komensal dan probiotik dalam melawan dan mencegah bakteri patogen keterikatan dan kolonisasi (40).



Gambar 2.3. Mekanisme aksi probiotik

Pengeluaran patogen secara kompetitif oleh probiotik memberikan efek pada saluran pencernaan dan organ lain host, meningkatkan adhesi probiotik dan melakukan tindakan protektif melawan patogen dengan bersaing untuk mendapatkan situs pengikatan host. Selanjutnya, adhesi probiotik ini meningkatkan kesempatan untuk berinteraksi dengan host dimana memberikan keuntungan terhadap efek imunostimulasi dari molekul permukaan probiotik (ligan untuk reseptor host) dan metabolitnya. Oleh karena itu, sifat pengeluaran patogen secara kompetitif dari probiotik menawarkan beberapa manfaat bagi kesehatan host termasuk

pengurangan perlekatan patogen, kolonisasi patogen, penyebaran lebih lanjut dari patogen, dan beban patogen pada host (40).

#### **B. Aspek kolonisasi usus**

Potensi probiotik untuk menjajah usus merupakan salah satu sifat paling penting sebagai karakteristik positif dari probiotik, seperti antagonisme terhadap mikroba berbahaya atau memodulasi sistem kekebalan tubuh terkait dengan kolonisasi usus mereka. Adhesi *lactic acid bacteria* dengan sel usus telah banyak dilaporkan. Interaksi antar molekul didistribusikan pada epitel usus dan permukaan sel bakteri memediasi adhesi dan kolonisasi bakteri serta sangat bervariasi dengan strain bakteri lainnya. Selanjutnya, probiotik memungkinkan dirinya untuk menjajah saluran cerna host yang diperlukan untuk meninjau lebih jauh manfaat dari probiotik terhadap host (40).

#### **C. Aspek fungsi *barrier* usus**

Epitel barrier usus bertindak sebagai barrier secara fisik dan kimiawi yang penting untuk mencegah masuknya racun, bakteri, dan benda asing lain yang tidak diinginkan. Telah dilaporkan dalam beberapa penelitian bahwa *lactic acid bacteria* dapat meningkatkan kemampuan epitel barrier usus yang telah dirusak oleh infeksi patogen. Probiotik memiliki beragam mekanisme aksi untuk meningkatkan fungsi barrier usus dan mempertahankan homeostasis. *Lactocaseibacillus* mengandung HSP27-*inducible*

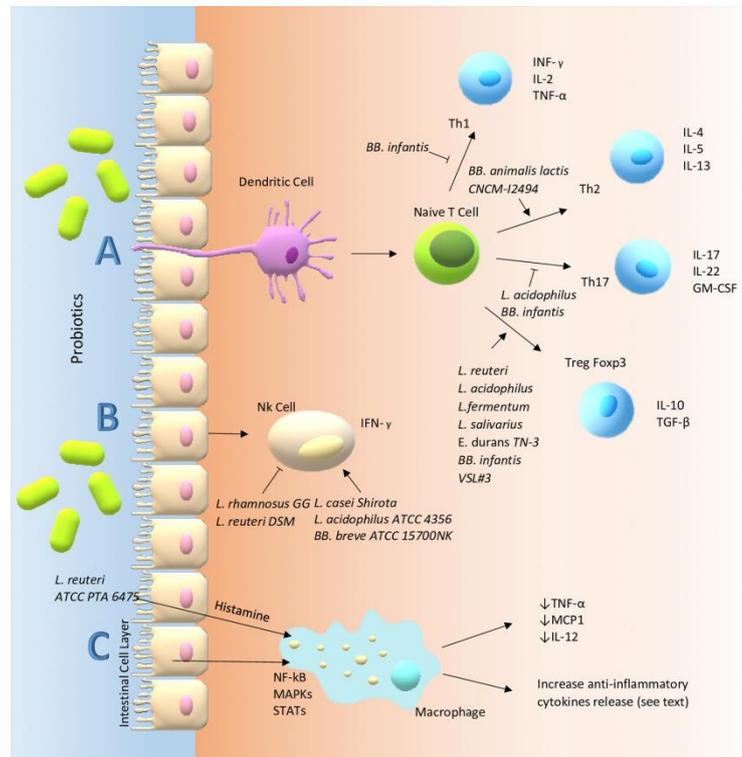
*polyphosphate (poly p) fraction*. Kandungan dari *Lactocaseibacillus* ini dapat memperkuat fungsi penghalang epitel dan menjaga homeostasis usus melalui jalur MAPK. Selain itu, strain lainnya seperti bifidobaterium dan streptococcus merangsang protein *tight junction* seperti *occludin* dan *claudin-1* yang dapat meningkatkan stabilitas barrier (40).

#### D. Aspek regulasi imun

Saat ini sudah diketahui bahwa probiotik memberikan efek imunomodulator dan memiliki potensi untuk berinteraksi dengan serangkaian sel imun seperti sel dendritik, limfosit, sel epitel, monosit, dan makrofag. Respon imun umumnya terdiri dari respon imun bawaan dan respon imun adaptif. Respon imun bawaan merespons PAMP yang didistribusikan oleh sebagian besar bakteri. Prinsip respon imun terhadap semua jenis patogen adalah dengan aktivasi respon imun setelah adanya interaksi antara reseptor imun seperti TLRs, NLRs, dan reseptor lektin tipe-C dengan PAMPs dan memulai pensinyalan sel. Di bawah pengaruh probiotik, sel dendritik yang diaktifkan menginduksi respon imun yang tepat misalnya sel T CD4 naif terhadap diferensiasi sel Treg yang umumnya menghambat respon inflamasi yang diperantarai oleh Th1, Th2, dan Th17. Lebih lanjut, probiotik menumpulkan peradangan usus dengan menurunkan regulasi ekspresi TLRs melalui sekresi metabolit penghambat TNF- $\alpha$  dan penghambatan pensinyalan faktor NF- $\kappa$ B

dalam enterosit. Probiotik juga memodulasi ekspresi berbagai jenis produksi sitokin (40).

Strain bakteri spesifik dapat mengaktifkan sel dendritik yang mengantar antigen ke kelenjar getah bening inang diikuti dengan pelepasan IL-10 dan IL-12. Sel dendritik menginduksi diferensiasi sel T dan sel B naif ke dalam subtype mereka, lalu akan memproduksi beberapa sitokin yang memiliki peran masing-masing dalam sistem imun. Secara rinci, sel Th naif dapat berdiferensiasi menjadi sel Treg, Th1, dan Th2, dan sel B dapat bergeser ke dalam sel plasma yang berperan aktif dalam respon imun humoral atau sel B regulator (Breg) yang terlibat dalam produksi faktor pertumbuhan tumor TGF- $\beta$  atau IL-10. Selanjutnya, sel dendritik dapat merangsang aktivasi sel NK melalui produksi sitokin seperti IL-12 dan IL-15. Mikroorganisme probiotik lainnya seperti bakteri asam laktat dapat mempromosikan IFN-g oleh sel NK melalui sel dendritik. Dalam satu sumber, telah dikaji regulasi strain bakteri probiotik dalam sistem imun mukosa usus (40).



Gambar 2.4. Mekanisme aksi probiotik strain bakteri dalam sistem imun mukosa usus

### 2.2.4.1. Mekanisme Probiotik pada Infeksi Paru

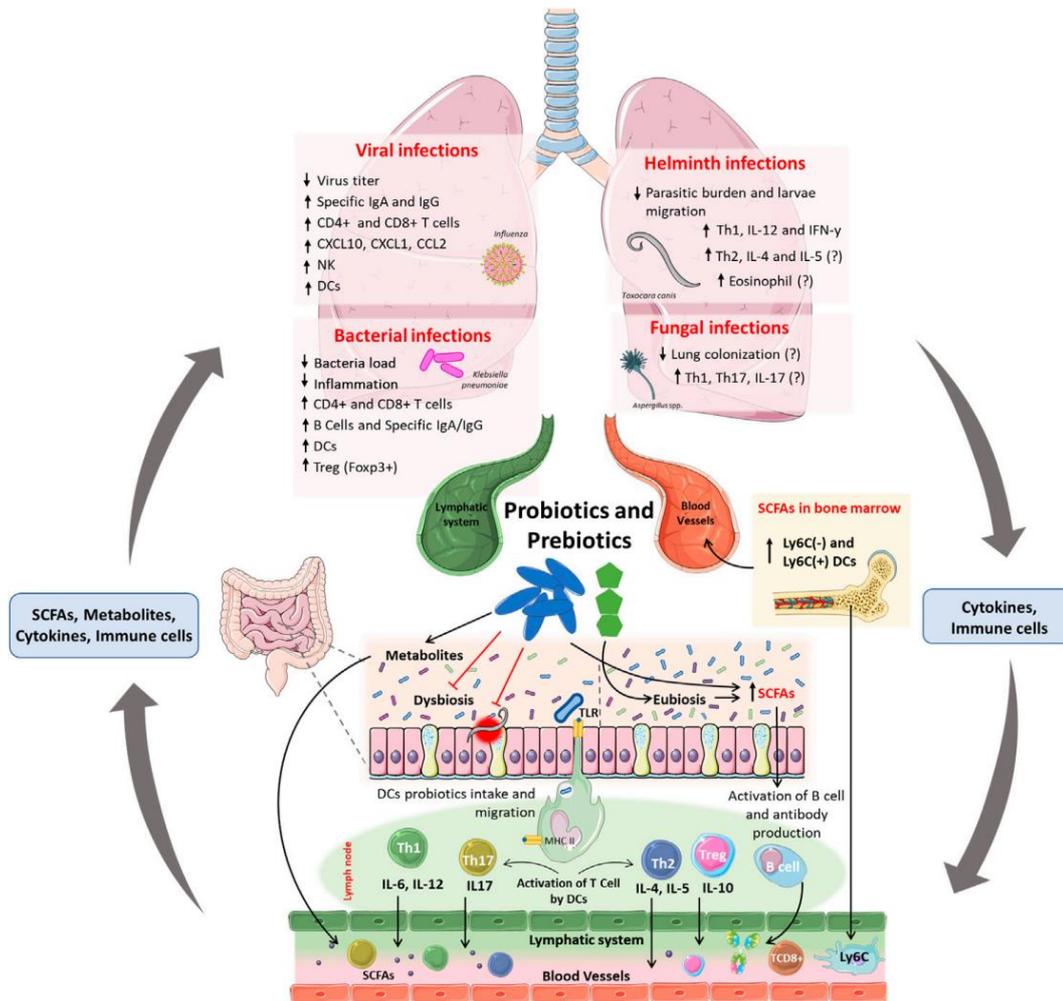
Mikrobiota memainkan peran mendasar dalam homeostasis inang melalui metabolisme nutrisi, produksi vitamin, metabolit, dan molekul antimikroba, aktivasi sistem kekebalan tubuh dan regulasi proses inflamasi. Disbiosis merupakan serangkaian kejadian multifaktorial yang menyebabkan ketidakseimbangan mikrobiota dalam inang. Disbiosis usus telah terbukti meningkatkan kerentanan inang terhadap infeksi terutama di paru dan juga diidentifikasi sebagai penyebab disbiosis usus. Menyotoroti tautan dua arah antara dua organ ini disebut *gut-lung axis* atau sumbu usus-

paru (41). Probiotik dianggap sebagai alat penting untuk modulasi mikrobiota di sumbu usus-paru, dengan manfaatnya pada sumbu paru usus tergantung pada strain probiotik yang digunakan (Gambar 2). Namun, mekanisme umum telah dilaporkan antar spesies, seperti:

- 1) kolonisasi saluran pernapasan dan usus,
- 2) produksi SCFA dan peptida antimikroba,
- 3) Pemeliharaan integritas mukosa usus dan paru,
- 4) Stimulasi sistem imun bawaan dan adaptif (42)

Manfaat probiotik telah ditunjukkan pada model hewan dan studi klinis dalam banyak kondisi penyakit, seperti diare pasca antibiotik, alergi dan inflamasi penyakit usus, dan infeksi saluran pernapasan (43). Untuk mikroorganisme tertentu untuk dinilai sebagai probiotik, kriteria keamanan hayati dan bukti ilmiah mengenai manfaat secara biologis harus diperhatikan (44). *Spesies Lacticaseibacillus* dan *Bifidobacterium* lebih umum digunakan sebagai probiotik; namun. Strain dari *Bacillus spp* juga digunakan sebagai probiotik meskipun jarang digunakan (30). Penggunaan probiotik yang tidak aktif juga sangat menarik karena mikroorganisme probiotik hidup dapat menyebabkan infeksi sistemik, stimulasi kekebalan yang berlebihan, dan antibiotik transfer gen resistensi (45). Mengambil ini menjadi pertimbangan, istilah postbiotik diusulkan sebagai: persiapan untuk mikroorganisme mati

dan/atau komponen yang memberikan manfaat kesehatan pada host (46).



Gambar 2.5. Efek dan mekanisme probiotik & prebiotik dalam sumbu usus-paru dan konteks infeksi pernapasan

Probiotik dan prebiotik yang diberikan secara oral dapat memperbaiki disbiosis dan menginduksi eubiosis pada inang, yang menyebabkan peningkatan SCFAs (*short chain fatty acids*) secara langsung (diproduksi oleh probiotik) atau tidak langsung (diproduksi oleh mikrobiota komensal). Selanjutnya, probiotik juga dapat mengurangi beban dan kerusakan epitel yang disebabkan oleh

parasit usus. Keberadaan probiotik oleh sel dendritik di submukosa usus dan migrasinya ke kelenjar getah bening dapat menginduksi aktivasi dan proliferasi sel Th1, Th2, Th17, Treg, dan sel B. Sel T dan sel B yang diaktifkan menghasilkan sitokin dan antibodi lalu masuk ke sistem peredaran dan limfatik dan mencapai paru. Probiotik ini juga akan meningkatkan resistensi terhadap infeksi yang disebabkan oleh virus, bakteri, dan jamur. Fermentasi probiotik dan produksi SCFA meningkatkan jumlah prekursor sel dendritik di sumsum tulang dan meningkatkan aktivitas sel T CD8+ yang akan memberikan proteksi terhadap infeksi paru. Imunomodulasi yang diinduksi probiotik dapat meningkatkan jumlah sel dendritik dan sel T CD4+ dan CD8+ di paru terhadap infeksi oleh virus dan bakteri serta dapat meningkatkan antibodi IgG dan IgM spesifik terhadap patogen tersebut. Peningkatan sel Treg mungkin juga berhubungan dengan pengurangan kerusakan pada paru yang disebabkan oleh peradangan. Pada infeksi parasit, probiotik telah dikaitkan dengan peningkatan frekuensi sel Th1 dan konsentrasi IL-12 serta IFN- $\gamma$  yang dapat mengurangi *parasite load* dan migrasi larva di paru (38).

SCFA merupakan hasil fermentasi serat makanan oleh mikrobiota seperti butirat, proprionat dan asetat yang terlibat dalam regulasi inflamasi dan imunitas respon pada paru. SCFA mengaktifkan GPCRs dan menghambat *histone deacetylases* sehingga berkontribusi pada pengurangan inflamasi di sumbu usus-

paru dengan menghambat jalur NF- $\kappa$ B, meningkatkan sel Treg, dan penurunan Th1 dan Th17. SCFA juga dapat mencapai sumsum tulang dengan mempengaruhi pembentukan dan perkembangan sel imun seperti monosit Ly6C dan Ly6C+ serta sel dendritik yang direkrut menuju ke paru dan memodulasi respon imun melawan patogen (38). Pada beberapa penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa aktivasi reseptor GPCR-43 di neutrofil dan makrofag alveolar oleh asetat sangat penting untuk memodulasi respon inflamasi dan mengendalikan infeksi paru oleh *Klebsiella pneumoniae* dan *Streptococcus pneumoniae* serotipe 1 pada tikus (45). Pada studi lain, aktivasi GPCR-43 dalam sel epitel paru yang diinduksi *interferon* (IFN)- $\beta$  di paru dan meningkatkan perlindungan tikus yang terinfeksi *Respiratory syncytial virus* (RSV) (46).

#### **2.2.4.2. Mekanisme Probiotik terhadap infeksi bakteri di paru**

Paru sangat rentan terhadap infeksi utamanya infeksi virus dan bakteri karena paparan konstan terhadap agen lingkungan. Salah satu penyakit umum yang disebabkan oleh bakteri di paru adalah pneumonia yang ditandai dengan infeksi alveolar dan respons inflamasi yang intens dimulai dari ringan hingga berat dan dapat mempengaruhi lobus kanan dan kiri serta dapat mengganggu pertukaran gas. Penyebab paling umum pneumonia karena bakteri yaitu *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus spp.*, dan *Klebsiella pneumoniae* (38).

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa pemberian probiotik strain yang berbeda secara oral seperti *Lactocaseibacillus bulgaricus* CRL 423 dan *Streptococcus thermophilus* CRL 412, *L. casei* CRL 431, *L. fermentum* dan *L. rhamnosus* CRL 1505 menyebabkan peningkatan resistensi terhadap infeksi, penurunan jumlah bakteri di paru dan peningkatan kelangsungan hidup. Selain itu, pemberian *L. rhamnosus* menginduksi respons antiinflamasi dengan meningkatkan kadar sel Treg Foxp3+ dan menurunkan produksi sitokin proinflamasi IL-6. Profil anti-inflamasi ini juga diamati pada tikus yang terinfeksi *P. aeruginosa* dengan pemberian probiotik intratrakeal *L. fermentum* K.C6.3.1E, *L. zea* Od.76, dan *L. paracasei* ES.D.88, ditunjukkan oleh pengurangan peradangan paru dan penurunan produksi IL-6 dan faktor nekrosis tumor (TNF)-a (18,38).

Potensi probiotik untuk melindungi inang dari infeksi paru juga telah dinilai dalam beberapa studi klinis, termasuk beragam pasien, desain metodologis, dan kriteria inklusi (Tabel 2). Sebagian besar penelitian ini berfokus pada probiotik untuk pencegahan dan pengobatan infeksi paru nosokomial pada pasien yang dirawat di unit perawatan intensif (ICU). Dua studi prospektif, acak, *double blind*, dan terkontrol plasebo menunjukkan bahwa probiotik *L. casei rhamnosus* dan *L. rhamnosus* GG, diberikan secara oral atau orofaringeal, menghasilkan penurunan kolonisasi dan infeksi LRT oleh *P. aeruginosa* atau gram terkait. Patogen positif dan gram

negatif pada pasien yang dirawat di ICU menggunakan ventilasi paru mekanis (47,48). Hanya satu penelitian yang menunjukkan bahwa pemberian simbiosis yang terdiri dari *B. breve Yakult*, *L. casei Shirota*, dan *galactooligosaccharides* menurunkan kejadian pneumonia terkait ventilator (VAP) pada pasien yang didiagnosis dengan sepsis yang dirawat di ICU (49).

### **2.3. *Lacticaseibacillus rhamnosus***

#### 1. Definisi

*Lacticaseibacillus rhamnosus* sebelumnya disebut sebagai *Lactocaseibacillus rhamnosus* merupakan bakteri gram positif alami yang dapat ditemukan di saluran pencernaan dan saluran vagina manusia (50). *Lacticaseibacillus rhamnosus* diidentifikasi sebagai jenis probiotik karena dapat bertahan terhadap cairan asam lambung dan cairan empedu, memiliki tingkat pertumbuhan yang baik, serta dapat menempel (adhesi) ke lapisan epitel usus (51).

#### 2. Klasifikasi

Menurut *Integrated Taxonomic Information System* tahun 2012 (52), klasifikasi *Lacticaseibacillus rhamnosus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Subkingdom : Posibacteria

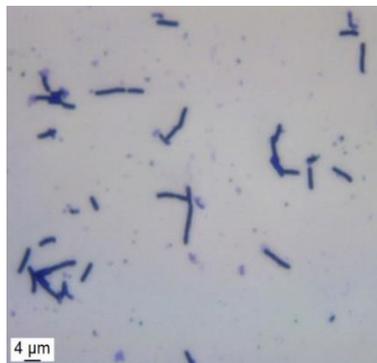
Phylum : Firmicutes

Class : Bacilli  
Order : Lactobacillales  
Family : Lactobacillaceae  
Genus : Lacticaseibacillus  
Species : *Lacticaseibacillus rhamnosus*

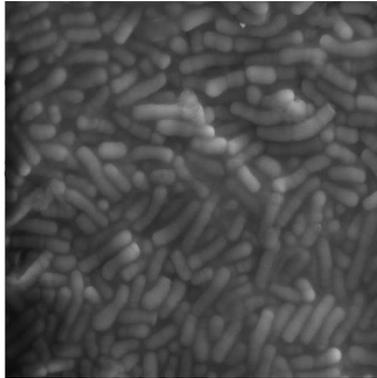
### 3. Karakteristik

*Lacticaseibacillus rhamnosus strain Gorbach-Goldin (LGG)* pertama kali ditemukan oleh Sherwood Gorbach dan Barry Goldin pada feses manusia yang sehat pada tahun 1983, yang merupakan batang Gram-positif dengan bau mentega yang khas ketika dikultur dan morfologi koloninya berwarna putih kecoklatan. Pada pewarnaan Gram, ia membentuk struktur palisading tidak seperti lactobacilli lainnya, yang membantu dalam mengidentifikasinya. Pengujian kimia dari LGG menunjukkan bakteri ini dapat memfermentasi selobiosa, fruktosa, glukosa, manitol, manosa, melezitosa, rhamnosa, ribosa, salisiin, sorbitol, trehalosa, dan xilosa tetapi tidak memfermentasikan gula laktosa, maltosa, atau sukrosa, amigdalin, arabinosa, eritritol, glikogen, inositol, melibiosa, atau afinosa. LGG menghasilkan senyawa yang juga dikenal sebagai bakteriosin, dengan aktivitas antimikroba melawan bakteri anaerob, seperti *Clostridium*, *Bacteroides*, dan *Bifidobacterium*, serta *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, dan *Salmonella* (53).

Tidak semua dari berbagai antimikroba yang disekresikan yang dibuat oleh LGG telah diidentifikasi secara pasti, meskipun asam laktat adalah zat antimikroba utama yang dibuat oleh semua *lactobacilli*. Terdapat 2 isomer asam laktat datang yaitu asam laktat-D dan asam laktat-L, dan strain *Lacticaseibacillus* yang berbeda menciptakan isomer asam laktat ini dalam rasio yang khas. Tidak ada strain yang menciptakan 100% dari satu isomer saja tetapi ada variabilitas yang luas dalam rasio bentuk-d dan bentuk-l di seluruh laktobasilus. Spesies *L. rhamnosus* terutama menciptakan asam laktat-L hampir secara keseluruhan, tetapi membentuk minoritas dalam bentuk asam laktat-D (94,2 dan 5,8%), sedangkan spesies lain memiliki pola kebalikannya (54).



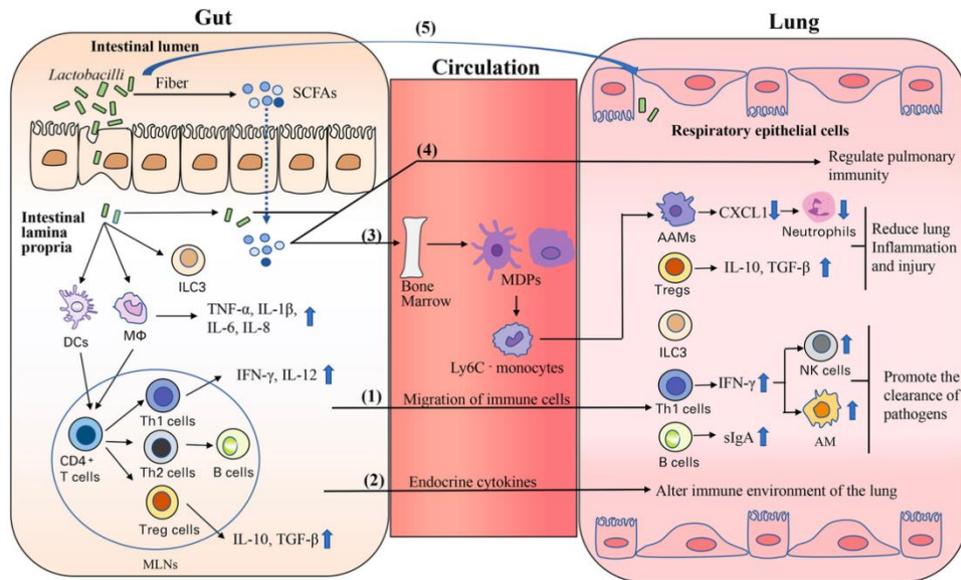
Gambar 2.6. *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG pada pewarnaan gram



Gambar 2.7. *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG pada mikroskop elektron

#### 4. Mekanisme kerja sebagai probiotik

*Lactocaseibacillus rhamnosus* termasuk kelompok *Lactic Acid Bacteria* (LAB) yang dikategorikan sebagai probiotik utama pada kasus resistensi antibiotik. LAB memiliki patogenisitas yang rendah dan memberikan berbagai manfaat pada kondisi kesehatan tubuh seperti pengurangan kadar kolesterol serum, peningkatan fungsi gastrointestinal, peningkatan sistem kekebalan tubuh, dan pengurangan risiko kanker usus besar. LAB juga mampu menghambat pembentukan kolonisasi patogen dan mengendalikan pH usus melalui pelepasan asam laktat dan asam asetat sehingga pertumbuhan bakteri dapat dihambat (16).



**Gambar 2.8.** Mekanisme *Lactobacillus rhamnosus* dalam proses imunitas tubuh.

*Lactobacillus rhamnosus* dapat mensekresikan enzim *D-lactate dehydrogenase* yang berperan penting dalam pembentukan asam fenil laktat dari fenilpiruvat. Asam fenil laktat adalah antimikroba biologis alami yang telah terbukti efektif menekan aktivitas *Klebsiella sp.*(17). Studi sebelumnya mengungkapkan bahwa *3-Phenyllactic acid* (PLA) adalah senyawa antimikroba dengan aktivitas spektrum luas. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Liu et al pada tahun 2017 menunjukkan bahwa 1% PLA mengurangi populasi *E. cloacae* sekitar 6 log CFU/ml untuk sel planktonik dan sebesar 2,83 log CFU/ml untuk sel biofilm setelah 10 menit perawatan. Gambar TEM (*Transmission Electron Microscope*) mengungkapkan adanya struktur sel yang rusak dan kebocoran

komponen intraseluler. Permeabilitas membran sitoplasma *E. cloacae* meningkat ketika konsentrasi PLA semakin dinaikkan. Analisis *flow cytometry* lebih lanjut mengungkapkan bahwa hampir semua sel bakteri rusak setelah pengobatan dengan PLA 1% selama 30 menit. Kerusakan pada membran sel bakteri dalam biofilm yang disebabkan oleh perlakuan PLA 1% juga diamati dengan analisis mikroskop pemindaian laser confocal. Temuan ini mengungkapkan bahwa PLA efektif dalam menonaktifkan planktonik dan biofilm (atau terkait biofilm) sel *E. cloacae* terutama dengan mekanisme kerusakan membran sel dan kebocoran komponen intraseluler (54).

*Phenylactic acid* (PLA) merupakan senyawa yang dihasilkan dari metabolisme bakteri asam laktat seperti *Lactocaseibacillus* spp.. Asam laktat mudah terdisosiasi menghasilkan ion H<sup>+</sup> dan CH<sub>3</sub>CHOHCOO<sup>-</sup> (48). Adanya ion H<sup>+</sup> akan menyebabkan penurunan nilai pH yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dimana pH optimum *Staphylococcus aureus* 7.4 (55) dan *Escherichia coli* memiliki pH 7 hingga 7.5 (56), serta *Klebsiella pneumoniae* 7,2 (57). Proton (ion H<sup>+</sup>) yang dihasilkan dari disosiasi dari asam laktat akan masuk ke dalam sel bakteri patogen karena adanya gradien proton. Selanjutnya bakteri berusaha mempertahankan pH alkali dalam sel dengan cara mengeluarkan proton tersebut dari dalam sel. Proses pengeluaran proton tersebut akan membutuhkan energi yang tinggi, sehingga bakteri akan mati

karena kehabisan energi. Beberapa asam laktat yang tidak mudah terdisosiasi atau netral yang berada diluar sel dapat berdifusi masuk melewati membran sel yang bersifat larut dalam lipid. Setelah masuk dalam sel, asam akan terdisosiasi dalam sitoplasma bakteri. *Phenylactic acid* memiliki struktur yang amfilik dimana sifat hidrofobiknya dari cincin aromatik dan sifat hidrofiliknya dari gugus karboksil. Sehingga diduga dapat berinteraksi dengan lipid dan protein dalam sel membran bakteri yang mempengaruhi permeabilitas dan integritasnya. Selain itu, *phenylactic acid* juga memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mengikat genom DNA sehingga mengganggu fungsi normal sel (58)

Bakteri probiotik dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen dalam usus manusia, memanfaatkan berbagai metabolisme jalur, melalui sintesis metabolit yang berbeda, seperti hidrogen peroksida, bakteriosin dan asam laktat. Pada penelitian sebelumnya melaporkan, tidak seperti pengobatan dengan aminoglikosida: amikasin dan gentamisin, yang meninggalkan sel bakteri hidup, *Lactocaseibacillus supernatant* tidak meninggalkan sel hidup dalam biofilm *Klebsiella pneumoniae* (59). Juga, temuan, seperti yang diwakili oleh Lagrfeuille dkk., sangat disarankan *lactobacilli* supernatan sebagai agen antimikroba yang kuat terhadap *K. pneumoniae* (60). Pada penelitian yang dilakukan oleh Mandal dan Halder pada tahun 2018 membandingkan aktivitas antibakterial

golongan *Lacticaseibacillus* seperti *Lacticaseibacillus animalis*, *Lacticaseibacillus plantarum*, *Lacticaseibacillus acidophilus*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, dan *Lacticaseibacillus fermentum* terhadap dua jenis *Klebsiella pneumoniae* yakni *Klebsiella pneumoniae* B535 dan *Klebsiella pneumoniae* NTCC 703603 melalui pemeriksaan *agar-overlay method* dan *agar-well diffusion method* dengan mengukur *Zone Diameter of Inhibition* (ZDI). Pada hasil penelitian disebutkan bahwa *L. rhamnosus* memiliki aktivitas antibakterial atau ZDI yang paling baik dibandingkan dengan jenis *lactobacilli* yang lainnya (61).

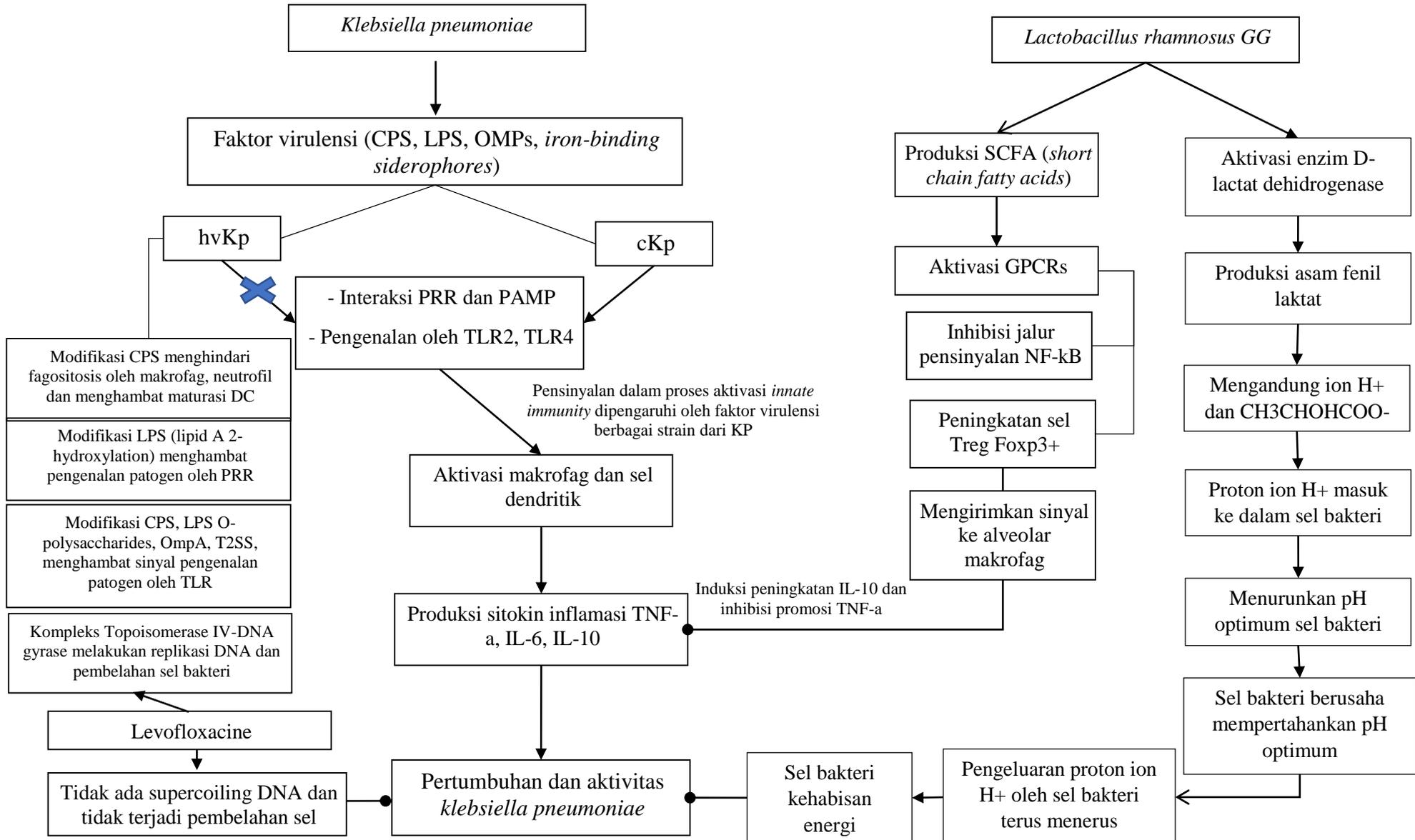
Pada hasil studi yang dilakukan oleh Fangous et al pada tahun 2019 yang menguji *L. rhamnosus* pada tikus yang terinfeksi *pseudomonas aeruginosa* didapatkan bahwa adanya peningkatan kelangsungan hidup, penurunan jumlah bakteri pada BAL, penurunan kadar IL-6, peningkatan kadar IL-10, dan meningkatkan kadar Treg Foxp3+ (18). Selain itu, pada penelitian lain yang memberikan *L. rhamnosus* GG pada mencit yang terinfeksi influenza A yang memberikan hasil yang baik seperti kelangsungan hidup lebih lama, peningkatan aktivitas *cell-killing* dari sel paru, peningkatan ekspresi mRNA dari IL-1 beta, TNF, dan MCP-1 (62).

Tabel 3. Ringkasan hasil studi preklinis dan klinis *Lacticaseibacillus rhamnosus* terhadap infeksi bakteri pada paru

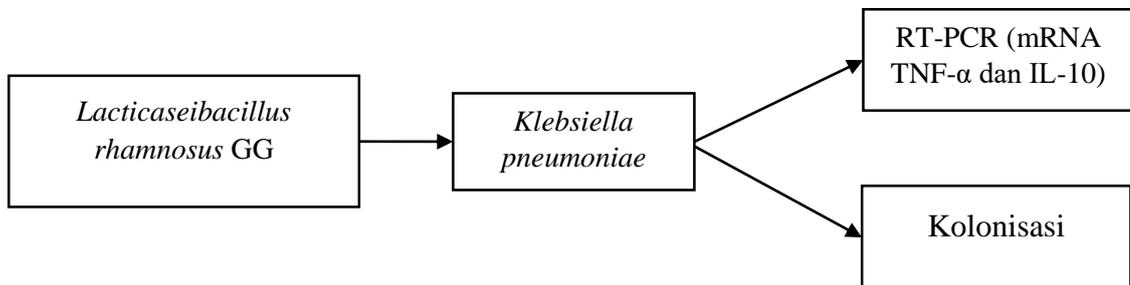
<i>Probiotics strain</i>	Metode	Model Eksperimen	Patogen	Luaran	Referensi
--------------------------	--------	------------------	---------	--------	-----------

Lactocaseibacillus rhamnosus MH22 (L. Casei F)	<i>In vitro</i> dengan kokultivasi pada MRS broth selama 24-48 jam	Kokultivasi 1 mL Lactocaseibacillus spp. dengan K. pneumonia	Klebsiella pneumoniae	Menghambat pertumbuhan strain Klebsiella dengan menginduksi hidrolase peptidoglikan yang mengganggu dinding sel bakteri.	Grigor'evskaya, Z.V et al. 2018
Lactocaseibacillus rhamnosus GG	<i>In vivo</i> dengan pemberian $1 \times 10^9$ CFU via oral $1 \times 1$ + antibiotik gentamisin 0,2 mg/ml subkutan $3 \times 1$ (jam ke-0, 12, dan 24) selama 7 hari	FVB/N mice usia 6-8 minggu	Pseudomonas aeruginosa	Tikus yang diobati mengalami peningkatan kelangsungan hidup; mengurangi jumlah bakteri dalam BAL; menurunkan kadar IL-6 dan peningkatan kadar mRNA IL-10; perbaikan patologi paru; dan peningkatan kadar penanda sel Treg Foxp3	Khailova et al., 2013
Lactocaseibacillus rhamnosus CRL1505	<i>In vivo</i> dengan pemberian $1 \times 10^8$ CFU via oral	Swiss-albino mice jantan usia 3 minggu yang malnutrisi	Streptococcus pneumoniae	Mengubah perubahan kuantitatif dan kualitatif sel T CD4+ di sumsum tulang, timus, limpa dan paru yang disebabkan oleh malnutrisi dan infeksi; dan meningkatkan IL-10 dan IL-4 di saluran pernapasan dan sistemik kompartemen	Berbieri et al., 2017
Lactocaseibacillus rhamnosus LMEM9	<i>In vitro</i> dengan aktivitas antibakteri ditentukan dengan metode difusi agar-well dan agar-overlay	Agar-well diffusion & agar-overlay methods	Klebsiella pneumoniae B535 & Klebsiella pneumoniae NTCC 703603	Didapatkan <i>zone diameter of inhibition</i> dari L. rhamnosus LMEM9 terhadap K.pneumonia B535 dan K. pneumonia NTCC 703603 cenderung lebih tinggi dibandingkan strain lactobacilli lainnya (ZDI $\geq$ 15 mm)	Shyamapada Mandal & Debashis Halder, 2018
Lactocaseibacillus rhamnosus GG	Studi klinis dengan pemberian $2 \times 10^9$ CFU via oral $2 \times 1$	Pasien VAP dengan pemasangan <i>mechanical ventilation</i> selama 72 jam	VAP dengan patogen gram negatif dan gram positif	Pengurangan perkembangan VAP yang dikonfirmasi secara mikrobiologis. Pasien yang diobati dengan probiotik memiliki lebih sedikit hari pemberian antibiotik yang diresepkan untuk VAP.	Morrow et al., 2010

## 2.4. Kerangka Teori



## 2.5. Kerangka Konsep



## 2.6. Hipotesis Penelitian

Probiotik *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif *Klebsiella pneumoniae* sebagai modulator respon imun berupa penurunan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan peningkatan produksi sitokin antiinflamasi yaitu IL-10 yang diperiksa menggunakan RT-PCR.

1. Terdapat penurunan ekspresi mRNA TNF- $\alpha$  yang bermakna pada kelompok intervensi probiotik dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Terdapat peningkatan ekspresi mRNA IL-10 yang bermakna pada kelompok intervensi probiotik dibandingkan dengan kelompok kontrol.
3. Tidak terdapat pertumbuhan koloni *Klebsiella pneumoniae* pada kelompok intervensi