

Pengaruh Pemberian Prebiotik *Lactobacillus reuteri* Terhadap Presentase Sel Regulator dan Sel T Helper 22 pada Limpa Mencit Nifas yang Diinduksi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Ratih Kusuma Wardhani^{1*)}, Sumarno², Agustina Tri Endharti²

¹ Program Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang Indonesia

² Program Studi Magister Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang Indonesia

*)Email : wardhanipc@gmail.com

Tlp : 081359545504

ABSTRACT

Postpartum infection is an infection that occurs due to bacteria in the genital tract after delivery, due to injury to the cervical area, vulva, vagina, and perineum during labor. Studies explain the bacteria that often cause female genital tract infection is Staphylococcus aureus and there is trauma or injury. Widespread bacterial resistance to existing drugs, encouraging to extract antibacterial sources from other substances, such as use probiotics. Probiotics are described as non-pathogenic microorganisms or bacterial components in food supplementation, including bacterial flora classes, which have health benefits for disease prevention and treatment, when in sufficient quantities. This study aims to prove whether there is an effect of giving Lactobacillus reuteri Treg cells percentage and Th22 cell percentage in the staphylococcus aureus-induced lymph node spleen. The study uses pure post test-only randomized control-group experimental design which utilizes 40 mice (B1b/c) and gestasional aged 13 days which are divided into 8 sample groups. Dosis Lactobacillus reuteri 1×10^{10} CFU/mice in 250 μ l via a oral sonde (a gavaging needle). Dosis Staphylococcus aureus 5×10^7 CFU/mice in 200 μ l via sput without needle per vaginal. Treg cells percentage and Th22 cell percentage were analysed for Flow cytometry. This study showed that the probiotic results of Lactobacillus reuteri were not proven to affect Treg cells percentage and Th22 cell percentage on the first day of postpartum. Provision of probiotics Lactobacillus reuteri until the third day postpartum proved to affect percentage Treg cells percentage and Th22 cells percentage.

Keywords: *Lactobacillus reuteri, Staphylococcus aureus, Th22 cell percentage, Treg cells Percentage*

ABSTRAK

Infeksi nifas merupakan infeksi yang terjadi akibat adanya bakteri di traktus genitalia setelah melahirkan, akibat adanya perlukaan pada daerah serviks, vulva, vagina, dan perineum pada proses persalinan. Beberapa penelitian menjelaskan bakteri yang sering menyebabkan infeksi traktus genitalia wanita adalah *Staphylococcus aureus* dan terdapat trauma atau luka. Meluasnya resistensi bakteri terhadap obat-obatan yang ada, mendorong untuk penggalan sumber antibakteri dari bahan lain, seperti penggunaan probiotik. Probiotik terdiskripsikan sebagai mikroorganisme non patogen atau komponen bakteri dalam makanan suplementasi, termasuk golongan flora bakteri, yang mempunyai manfaat bagi kesehatan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit, ketika dalam jumlah yang cukup. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan apakah ada pengaruh pemberian *Lactobacillus reuteri* terhadap presentase sel Treg dan sel Th22 pada limpa mencit nifas yang diinduksi *Staphylococcus aureus*. Desain penelitian menggunakan true eksperimental dengan pendekatan *post test only control group design*. Sampel yang digunakan mencit (*Mus musculus* Galur Balb/c) bunting 13 hari dengan replikasi 40 mencit yang terbagi 8 kelompok. Dosis *Lactobacillus reuteri* 1×10^{10} CFU/mencit sebanyak 250 μ l diberikan per oral. Dosis *Staphylococcus aureus* 5×10^7 CFU/mencit sebanyak 200 μ l diberikan per vaginal. Presentase sel Treg dan sel Th22 dianalisis melalui pemeriksaan flowsitometri. Penelitian ini menunjukkan hasil pemberian probiotik *Lactobacillus reuteri* tidak terbukti mempengaruhi presentase sel Treg dan sel Th22 pada hari pertama postpartum. Pemberian probiotik *Lactobacillus reuteri* sampai hari ketiga postpartum terbukti mempengaruhi presentase sel Treg dan sel Th22.

Kata kunci: *Lactobacillus reuteri*, *Staphylococcus aureus*, Presentase sel Th22, Presentase sel Treg

PENDAHULUAN

Masa nifas merupakan penyebab kematian terbesar pada ibu sebesar 48,17%.¹ Penyebab langsung kematian ibu antara lain perdarahan (28%), preeclampsia (24%), partus lama, komplikasi aborsi, dan infeksi (11%).² Salah satunya, infeksi nosokomial disebabkan oleh Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) yang didapat dari infeksi *Staphylococcus aureus* dan sekarang resisten dianggap endemic di rumah sakit.³ Infeksi *Staphylococcus aureus* menjadi masalah yang serius saat ini, karena meningkatnya resistensi bakteri terhadap berbagai jenis antibiotik.⁴

Infeksi nifas merupakan infeksi yang terjadi akibat adanya bakteri di traktus genitalia setelah melahirkan, akibat adanya perlukaan pada daerah serviks, vulva, vagina, dan perineum pada proses persalinan.^{5,6} Beberapa penelitian menjelaskan bakteri yang sering menyebabkan infeksi traktus genitalia wanita adalah *Staphylococcus aureus*, dan terdapat trauma atau luka maka sebagai media masuknya *Staphylococcus aureus* untuk terjadinya infeksi.^{5,7}

Penelitian lain mengemukakan Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) resisten terhadap antibiotik jenis β -lactam, penisilin, cephalosporins, dan carbapenem.⁴ Meluasnya resistensi bakteri terhadap obat-obatan yang ada, mendorong untuk penggalan sumber antibakteri dari bahan lain, seperti penggunaan probiotik. Probiotik terdiskripsikan sebagai mikroorganisme non patogen atau komponen bakteri dalam makanan suplementasi, termasuk golongan flora bakteri, yang mempunyai manfaat bagi kesehatan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit, ketika dalam jumlah yang cukup.^{8,9}

Probiotik yang dikonsumsi secara peroral akan melewati barier yang ada di

saluran cerna yang terdiri dari mucus. Antigen berikatan dengan APC untuk dipresentasikan oleh MHC II yang berada di Plak Peyer (ileum), selanjutnya mengaktifasi semua CD4+ sel T menjadi sel Treg dan sel Th22. Sel Treg dan sel Th22 yang telah teraktivasi akan menuju sirkulasi darah dan mengalami proses homing ke jaringan mukosa di seluruh tubuh, seperti jaringan mukosa saluran pencernaan, saluran genitourinaria, saluran nafas atas dan bawah, dan saluran kelenjar mamae dan jaringan limfoid (limpa dan kelenjar getah bening).^{10,11}

Sel Treg menghambat perkembangan sel efektor produk sitokin antiinflamasi, seperti IL-10 dan TGF- β , setelah adanya stimulasi yang dimediasi TCR (T-cell receptor), CD4+ CD25hi FoxP3 (Treg) menekan aktivasi dan proliferasi sel Th1, Th2, dan Th17.⁸ Sel Th22 mengeluarkan sitokin IL22, sebagai subset sel T yang secara langsung bisa untuk berperan dalam proses inflamasi.³² Sitokin IL22 dapat mendorong respon inflamasi dengan adanya stimulasi sitokin IL6 tanpa adanya TGF β (IL6 Independent)³¹, selain itu IL-22 mempunyai peran penting dalam sistem imun alami (innate imunitas) yang berada pada jaringan seperti menginduksi defensin.³³

Selama ini, penelitian tentang probiotik sudah dilakukan pada 1500 wanita hamil dengan usia kehamilan 32 dan 36 minggu sampai proses persalinan.¹² Namun, penelitian yang membahas tentang probiotik dikaitkan dengan nifas atau infeksi nifas masih belum banyak.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adakah pengaruh pemberian *Lactobacillus reuteri* terhadap presentase sel Treg dan Th22 pada limfa mencit nifas yang diinduksi *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental* (eksperimental sesungguhnya) dengan dipilih pendekatan *post test only control group design*.

Subyek Penelitian

Sampel yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus Galur Balb/c*) yang berada di Laboratorium Biologi Teknologi Universitas Negeri Malang. Kriteria inklusi meliputi berat badan antara 30-35 gram, Mencit dalam keadaan sehat yang ditandai dengan gerak aktif dan bulu tidak rontok, usia kebuntingan 13 hari. Jumlah sampel keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini 40 ekor mencit dalam 8 kelompok.¹³ Pemeliharaan mencit di Laboratorium Parasitologi FKUB Malang.

Variabel Penelitian

Variabel penelitian yang diamati meliputi variabel independen yakni pemberian probiotik *Lactobacillus reuteri*, variabel dependen adalah presentase sel Treg dan Th22.

Pemberian Probiotik *Lactobacillus reuteri* dan Induksi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Probiotik *Lactobacillus reuteri* diberikan dengan dosis 1×10^{10} CFU/mencit sebanyak 250 μ l/mencit, diberikan secara peroral dengan menggunakan sonde lambung setiap hari (sekali sehari) diberikan mulai usia kehamilan 13 hari sampai dengan post partum hari pertama dan ketiga.^{14,15} Induksi bakteri *Staphylococcus aureus* diberikan secara per vaginal dengan dosis 5×10^7 sebanyak 200 μ l/mencit, pada 0 sampai dengan 12 jam post partum (segera setelah melahirkan).¹⁶

Kultur probiotik dan bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FKUB Malang.

Pembedahan dan Pengambilan Organ Limpa

Pembedahan dan pengambilan organ limfa dilakukan di Laboratorium Parasitologi FKUB Malang. Pengambilan organ limpa dilakukan pada postpartum hari I dan III.

Pengukuran Presentase Sel Treg dan Th22

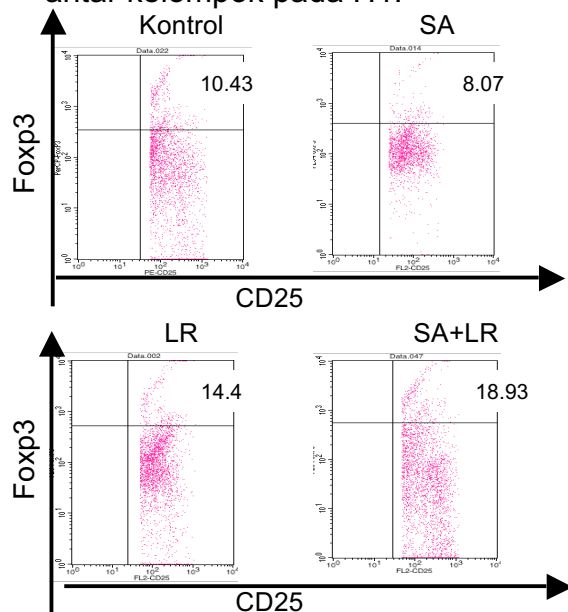
Presentase sel Treg dan Th22 diukur dengan menggunakan flowsitometri. Sel Treg menggunakan lebel antibodi PerCP antimouse CD4+, antibodi PE antimouse CD25+, dan antibodi FITC antimouse FoxP3 (eBioscience, USA). Sel Th22 menggunakan antibodi PerCP antimouse CD4+ dan PerCP/Cy5 antimouse IL22 (R&D Systems, USA). Pengukuran dilakukan di Laboratorium Biomedik FKUB Malang.

Analisis Statistik

Semua data dihitung mean $\pm$ SD dan dianalisis menggunakan *software* minitab 17.0. Data diuji normalitas menggunakan *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan *Lavene's test*, dilanjutkan menggunakan uji parametrik *One Way Anova*,¹⁷ untuk membandingkan kelompok Kontrol, *Staphylococcus aureus* (SA), *Lactobacillus reuteri* (LR), *Staphylococcus aureus* dan *Lactobacillus reuteri* (SA+LR).

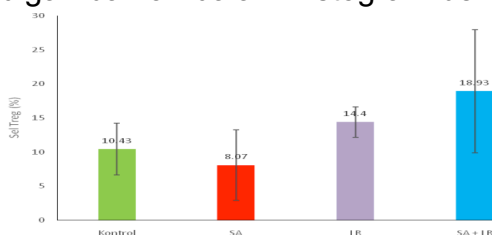
HASIL PENELITIAN

Hasil Pengukuran Presentase Sel Treg antar kelompok pada H1:



Gambar 1. Gambar hasil flowsitometri sel Treg pada berbagai perlakuan H1

Perbandingan persentase sel Treg pada H1 post partum dapat digambarkan dalam histogram berikut :

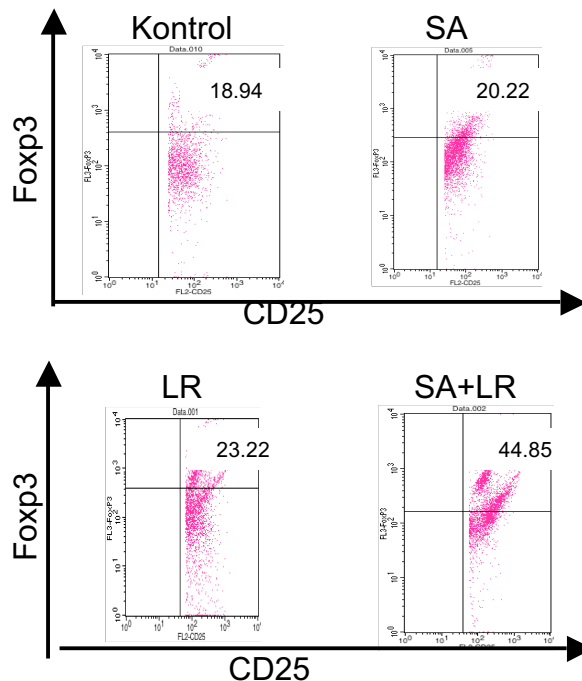


Gambar 2. Perbedaan Persentase sel Treg H1 Postpartum antar Kelompok Perlakuan.

Keterangan: * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.001$)

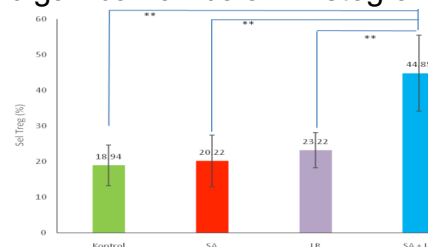
Gambar 2 menunjukkan bahwa rata-rata Persentase sel Treg kelompok *Staphylococcus aureus* dan *Lactobacillus reuteri* (SA+LR) lebih tinggi daripada kelompok lainnya, namun secara statistik tidak ditunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Dari pengujian ini, terbukti bahwa pemberian *Lactobacillus reuteri* pada mencit nifas yang diinduksi *Staphylococcus aureus* pada H1 belum mampu meningkatkan persentase sel Treg secara signifikan.

Hasil Pengukuran Presentase Sel Treg antar kelompok pada H3:



Gambar 3. Gambar hasil flowsitometri sel Treg pada berbagai perlakuan H3

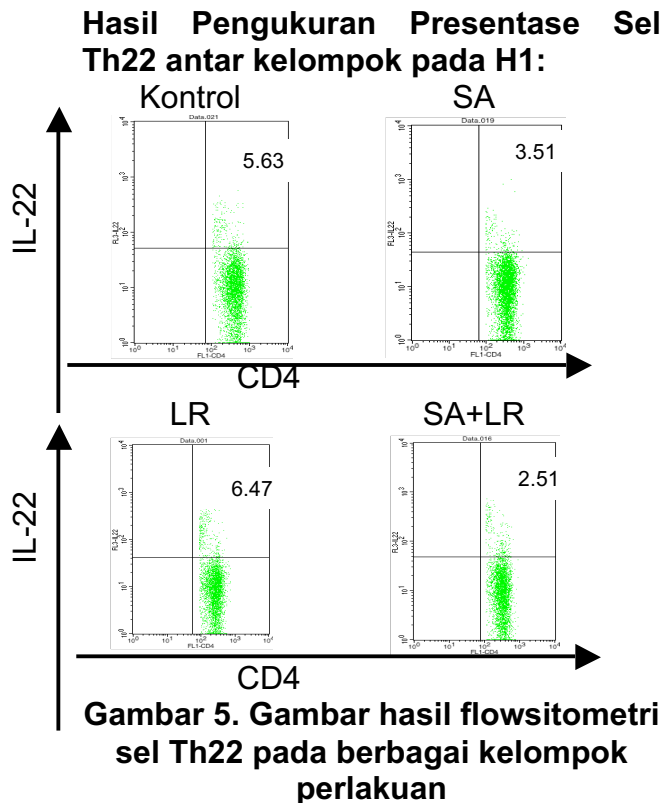
Perbandingan persentase sel Treg pada H1 post partum dapat digambarkan dalam histogram berikut :



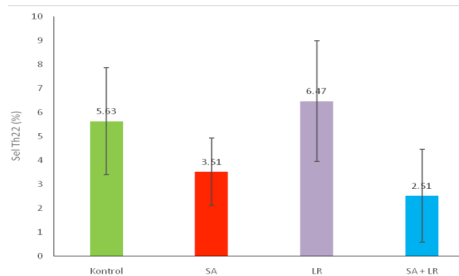
Gambar 4. Perbedaan Persentase sel Treg H1 Postpartum antar Kelompok Perlakuan.

Keterangan: * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.001$)

Berdasarkan pada Gambar 4 menunjukkan bahwa rata-rata Persentase sel Treg kelompok SA+LR lebih tinggi daripada kelompok lainnya. Hal ini membuktikan bahwa pemberian *Lactobacillus reuteri* pada mencit postpartum yang diinduksi *Staphylococcus aureus* pada H3 mampu meningkatkan persentase sel Treg secara signifikan.



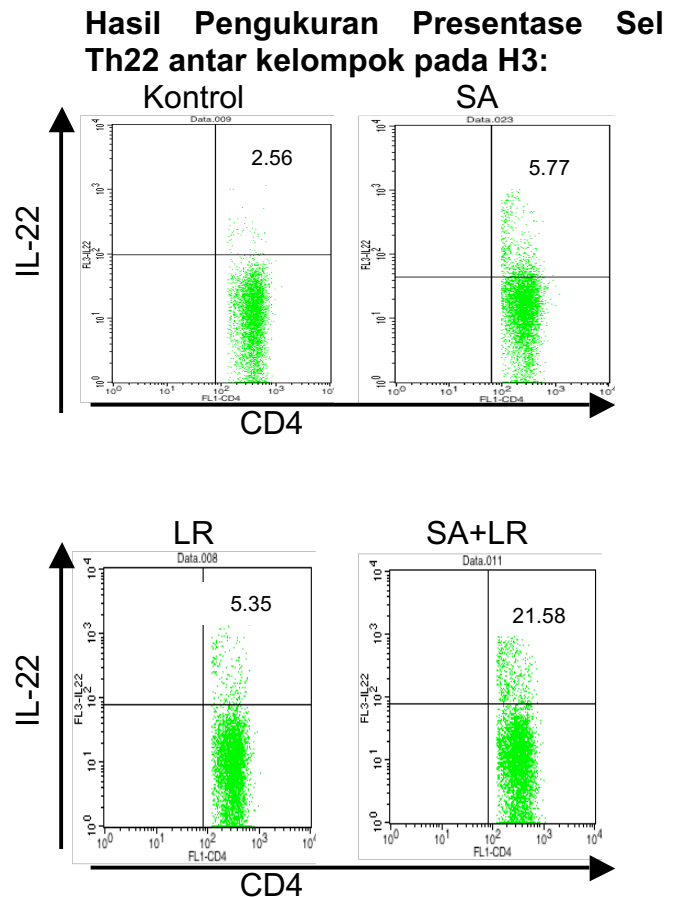
Perbedaan persentase sel Th22 dapat digambarkan dalam histogram berikut :



Gambar 6. Perbedaan Persentase sel Th22 H1 Postpartum antar Kelompok Perlakuan.

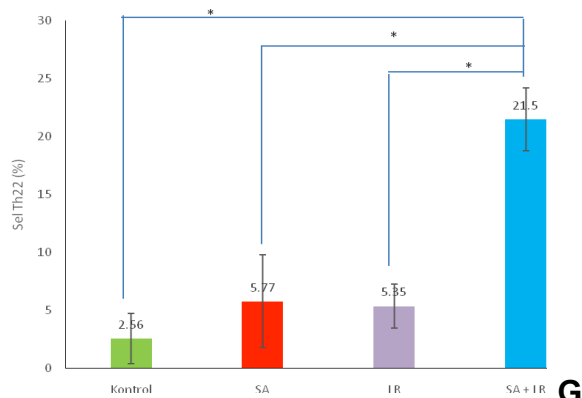
Keterangan: * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.001$)

Gambar 6 menunjukkan rata-rata Persentase sel Th22 kelompok *Staphylococcus aureus* dan *Lactobacillus reuteri* (SA+LR) lebih rendah daripada kelompok lainnya, namun secara statistik tidak berbeda nyata dengan kelompok yang lain.



Gambar 7. Gambar hasil flowsitometri sel Th22 pada berbagai kelompok perlakuan (H3)

Berdasarkan histogram Gambar 8. tentang perbedaan presentase sel Th22 pada H3 menunjukkan rata-rata persentase sel Th22 kelompok SA+LR) lebih tinggi daripada kelompok lainnya. Dari pengujian ini, terbukti bahwa pemberian *Lactobacillus reuteri* pada mencit postpartum yang diinduksi *Staphylococcus aureus* pada H3 mampu meningkatkan persentase sel Th22 secara signifikan.



Gambar 8. Perbedaan Persentase sel Th22 H3 Postpartum antar Kelompok Perlakuan.

Keterangan: * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.001$)

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian ini presentase sel Treg pada H1 kelompok yang diberikan probiotik *Lactobacillus reuteri* dan diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus* kecenderungan meningkat, hasil analisisnya tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Perlakuan pemberian *Lactobacillus reuteri* dan induksi *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan terjadinya imun efek. Efek ini timbul akibat kombinasi dari efek antiinflamasi dan imunomodulasi.¹⁸

Kemampuan Sel Treg menekan secara aktif proliferasi limfosit yang autoreaktif yang lolos dari toleransi sentral dan dapat menginduksi toleransi perifer serta mencegah autoimunitas.^{19,20} Hasil penelitian Li dan Xin (2010) menerangkan bahwa sel Treg dapat mensekresi sitokin antiinflamasi yang bersifat supresif.

Penelitian lain menjelaskan *Lactobacillus sp.* mempunyai efek imunomodulator, dapat menginduksi $CD4^+$ Treg.^{22,23,24,25} Penelitian Mayne, *et al.* (2013) membahas tentang sel Treg yang dikaitkan dengan kasus IBD (Inflammatory Bowel Disease) mempunyai peran sinergis dalam toleransi mukosa. Perkembangan dan fungsi sel Treg dipengaruhi oleh lingkungan, faktor gizi, dan mikroba.

Penelitian Smith, *et al.* (2005) menunjukkan efek kombinasi *Lactobacillus reuteri* dan *Lactobacillus casei* memberikan manfaat yang menguntungkan dalam pengobatan. Pengobatan tersebut dikaitkan dengan sejumlah penyakit inflamasi, seperti dermatitis atopic dan penyakit Crohn's.²³ Hasil penelitiannya, kombinasi *Lactobacillus* tersebut dapat meningkatkan induksi perkembangan dari sel Treg. Penelitian lain yang dilakukan oleh Dwivedi *et al.* (2016) menerangkan perkembangan penyakit autoimun terhadap respon imun yang berkaitan dengan sel Treg. Sel Treg pada kasus autoimun mengalami penurunan aktivasi karena adanya kondisi peningkatan respon imun proinflamasi yang berlebihan. Adanya pemberian probiotik mampu mengembalikan respon imun dalam keadaan homeostasis. Jumlah dan fungsi sel Treg meningkat sehingga mampu menekan aktivasi sel $CD4^+$ T yang mengarah ke proinflamasi.⁸

Pada H3 presentase sel Treg menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata persentase sel Treg antara kelompok SA dengan LR. Hal ini membuktikan bahwa pemberian *Lactobacillus reuteri* pada mencit postpartum yang diinduksi *Staphylococcus aureus* pada H3 mampu meningkatkan persentase sel Treg secara signifikan. Berdasarkan histogram presentase sel Treg pada kelompok *Lactobacillus reuteri* dan *Staphylococcus aureus* (SA+LR) lebih tinggi daripada kelompok lainnya.

Pemberian probiotik dari trimester ketiga pada kehamilan sampai dengan postpartum hari ketiga lebih mampu meningkatkan presentase sel Treg daripada diberikan sampai dengan postpartum hari pertama. Pernyataan tersebut didukung penelitian Karimi, *et al.* (2009) mengemukakan pemberian probiotik *Lactobacillus reuteri* diberikan pada model asma mencit Balb/c selama

3, 5, dan 9 hari.¹⁴ Hasil penelitian Karimi probiotik *Lactobacillus reuteri* dapat menginduksi presentase sel Treg lebih tinggi selama 9 hari.¹⁴ Penelitian lain yang dilakukan oleh Chen, *et al.* (2010) menjelaskan pemberian probiotik jenis *Lactobacillus* selama 2 bulan pada anak asma dan rhinitis alergi didapatkan peningkatan fungsi paru, perbaikan skor gejala klinis asma dan rhinitis alergi.²⁷

Penelitian Baroja, *et al.* (2007) menggunakan probiotik kombinasi antara *Lactobacillus reuteri* dan *Lactobacillus rhamnosus* diberikan pada pasien yang mengalami IBD (penyakit colitis) selama 30 hari. Efek yang diperoleh terjadi peningkatan pada presentase sel Treg yang tinggi, sehingga mempunyai manfaat klinik seperti terjadi penurunan IBD (penyakit colitis) pada jangka panjang.²⁸

Pemberian probiotik yang lebih lama dalam jumlah yang cukup, mempunyai manfaat bagi kesehatan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit.^{9,27}

Hasil presentase sel Th22 pada H1 menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan persentase sel Th22 pada semua kelompok ($p>0,05$) antara kelompok kontrol, SA, LR, dan SA+LR, namun jika dilihat berdasarkan histogram kelompok *Lactobacillus reuteri* dan *Staphylococcus aureus* (SA+LR) lebih rendah daripada kelompok lainnya. Pemberian *Lactobacillus reuteri* sampai dengan hari pertama postpartum presentase sel Th22 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Walter, *et al.* (2011) mengemukakan probiotik *Lactobacillus reuteri* mempunyai manfaat dalam menstimulasi respon imun dapat meningkatkan sementara sitokin proinflamasi di saluran cerna.²⁹ Adanya peningkatan sitokin proinflamasi seperti Th22 yang dapat meningkatkan produksi IgA dan β defensin yang nantinya

berperan dalam proses pembersihan bakteri.

Pemberian probiotik *Lactobacillus reuteri* dan adanya induksi bakteri *Staphylococcus aureus* diharapkan mampu meningkatkan presentase sel Th22 sehingga produksi IgA dan β defensin semakin lebih banyak dan mampu menekan serangan dari bakteri *Staphylococcus aureus* pada hari pertama postpartum. Hasil penelitian ini hampir serupa dengan penelitian oleh Proborini (2013) bahwa pemberian probiotik pada mencit yang terpapar LPS *E.coli* tidak memberikan pengaruh terapi.¹⁸

Pemberian probiotik selama masa kehamilan trimester 3 sampai dengan postpartum hari pertama diharapkan dapat meningkat presentase sel Th22, sehingga mampu mengaktivasi antimikrobal seperti defensin. Pernyataan tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mondel, *et al.* (2009) menggunakan subyek manusia sehat mengkonsumsi probiotik mampu menginduksi human beta-defensin (Hbd)-2, namun hasil dari penelitian ini tidak mampu meningkatkan presentase sel Th22 dibandingkan dengan kelompok kontrol pada postpartum hari pertama.³⁰

Pemberian probiotik *Lactobacillus reuteri* sampai dengan postpartum hari ketiga dan diinduksi *Staphylococcus aureus* mampu meningkatkan presentase sel Th22 secara signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa dengan diberikannya probiotik *Lactobacillus reuteri* sampai dengan hari ketiga postpartum dapat berperan dalam pencegahan sehingga mampu mempersiapkan sIgA dan β -defensin kedalam kondisi yang optimal dalam persiapan menghadapi paparan suatu bakteri.

Pernyataan sebelumnya didukung teori yang menjelaskan tentang pemberian probiotik *Lactobacillus reuteri* mampu

menginduksi sel-sel imun pada mukosa usus yang nantinya sel-sel imun tersebut akan mengalami homing ke jaringan limfoid, genitourinaria sehingga sel-sel imun yang antigen reaktif di daerah tersebut juga meningkatkan dan kemudian sel-sel imun tersebut akan bereaksi terhadap antigen setempat.¹¹

Penelitian Basu, *et al.* (2012) mengemukakan bahwa pada infeksi bakteri akan terjadi peningkatan sitokin proinflamasi yang dihasilkan oleh sel Th22, dimana sel Th22 merupakan sel yang memproduksi IL-22 yang dapat meningkatkan produksi β -defensin yang nantinya berperan dalam proses pembersihan bakteri.³¹ Dalam hal ini dengan pemberian bakteri saja mampu meningkatkan produksi β -defensin pada mencit nifas. Hasil penelitian ini rerata presentase sel Th22 pada kelompok *Staphylococcus aureus* (SA) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol dan *Lactobacillus reuteri* (LR), sehingga dapat disimpulkan bila terjadi paparan bakteri *Staphylococcus aureus* tubuh akan memberikan respon imun untuk menghadapi serangan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa pemberian probiotik *Lactobacillus reuteri* pada mencit nifas yang diinduksi *Staphylococcus aureus* pada H1 post partum tidak terbukti mempengaruhi presentase sel Treg dan sel Th22 secara signifikan. Pemberian probiotik *Lactobacillus reuteri* pada mencit nifas yang diinduksi *Staphylococcus aureus* pada H3 post partum terbukti mempengaruhi presentase sel Treg dan sel Th22 secara signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan Provinsi Jawa Timur. Profil Kesehatan Provinsi Jawa Timur Tahun 2011. Surabaya. 2012.

2. Kementerian Kesehatan RI. *Pedoman Pemantauan Wilayah Setempat Kesehatan Ibu dan Anak (PWS-KIA)*. Jakarta: Departemen Kesehatan. 2010.
3. Lindsay, J.A., Holden, M.T. *Staphylococcus aureus: superbug, super genome. Trends in microbiology* 12, 378-385. 2004.
4. Chambers, H.F. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerg. Infect. Dis.*, 7, 178–182. 2001.
5. Cunningham, F.G., dkk. *Obstetri Williams Edisi 21 Vol.1*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2006.
6. Prawirohardjo, S. *Ilmu Kebidanan*. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. 2005.
7. Torok, M.E., and Day, N.P.J. *Staphylococcal and Streptococcal infections*. Elsevier. *Medicine*. 42:1. 2013.
8. Dwivedi, M., Kumar, P., Laddha, N.C., Helen Kemp, E. Induction of regulatory T cells: A role for probiotics and prebiotics to suppress autoimmunity. *Autoimmunity Reviews*;14:49–56. 2016.
9. Reid, G., Jass, J., Sebulsy, M.T., McCormick, J.K. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin. Microbiol. Rev.* 16: 658-672. 2003.
10. Reid, G., Jass, J., Sebulsy, M.T., McCormick, J.K. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin. Microbiol. Rev.* 16: 658-672. 2003.
11. Baratawidjaja, K.G., Rengganis, I. *Imunologi Dasar Edisi ke-11*. Jakarta: Badan Penerbit FKUI. 2014.
12. Dugoua J.J., Machado M., Zhu X., Chen X., Koren G., Einarson T.R. Probiotic safety in pregnancy: a

- systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials of Lactobacillus, Bifidobacterium, and Saccharomyces spp. *J Obstet Gynaecol Can* ;31(6):542-52. 2009.
13. Hidayati, A.A.A. Metode Penelitian Kebidanan dan Teknik Analisis Data. Jakarta: Salemba Medika. Halaman 62-63, 80. 2010.
 14. Karimi, K., Inman, M.D., Bienenstock, J., Forsythe, P. Lactobacillus reuteri-induced Regulatory T cells Protect against an Allergic Airway Response in Mice. *Am J Respir Crit Care Med*, vol 179. Pp 186-193. 2009.
 15. Qiao, Y., Sun, J., Xia, S., Li, L., Li, Y., Wang, P., Shi, Y., Le, G. Effects of different Lactobacillus reuteri on inflammatory and fat storage in high-fat diet-induced obesity mice model. *Journal of functional foods* 14; 424–434. 2015.
 16. Lazarenko, L., Babenko, L., Sichel, L.S., Pidgorskyi, V., Mokrozub, V., Voronkova, O., Spivak, M. Antagonistic Action of Lactobacilli and Bifidobacteria in Relation to Staphylococcus aureus and Their Influence on Immune Response in Cases of Intravaginal Staphylococcosis in Mice. *Probiotics and Antimicro.Prot* 4:78-89. 2012.
 17. Dahlan, S.M. *Besar Sampel dan Cara Pengambilan Sampel*. Jakarta : Salemba Medika. 2013.
 18. Proborini, A., Sumarno, Sumakto. Probiotik Tidak Mempengaruhi Profil Sel imun Adaptif pada Infeksi Escherichia coli. *Jurnal Kedokteran Universitas Brawijaya Malang*, vol.27,No.4. 2013.
 19. La Cava, A. The busy life of regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. *Discovery Medicine*, 8(40): 13-17. 2009.
 20. Mercer, F., Kozhaya, L., Unutmaz, D. Expression and function of TNF and IL1 receptors on human regulatory T cells. *Plosone*, 5(1): e8639. 2010.
 21. Li, F.L., Xin, W. Targeting FoxP3+ regulatory T cells-related immunosuppression for cancer immunotherapy. *Chinese Medical Journal*, 123(22): 3334-3342. 2010.
 22. Haller, D., Serrant, P., Granato, D., Schiffrin, E.J., Blum, S. Activation of human NK cells by Staphylococci and Lactobacilli requires cell contact-dependent costimulation by autologous monocytes. *Clin. Diagn. Lab. Immunol*, 9, 649–657. 2002.
 23. Smits, H.H., Engering, A., van der Kleij, D., de Jong, E.C., Schipper, K., van Capel, T.M., et al. Selective probiotic bacteria induce IL-10-producing regulatory T cells in vitro by modulating dendritic cell function through dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing nonintegrin. *J Allergy Clin Immunol*;115: 1260–7. 2005.
 24. Jeon, S.G., Kayama, H., Ueda, Y., Takahashi, T., Asahara, T., Tsuji, H., Tsuji, N.M., Kiyono, H., Ma, J.S., Kusu, T., et al. Probiotic Bifidobacterium breve induces IL-10 producing Tr1 cells in the colon. *PLoS One*, 8, e1002714. 2012.
 25. Roselli, M., Finamore, A., Nuccitelli, S., Carnevali, P., Brigidi, P., Vitali, B., Nobili, F., Rami, R., Garaguso, I., Mengheri, E. Prevention of TNBS-induced colitis by different Lactobacillus and Bifidobacterium strains is associated with as expansion of $\gamma\delta$ T and regulatory T cells of intestinal intraepithelial

- lymphocytes. *Inflamm. Bowel Dis*, 15, 1526–1536. 2009.
26. Mayne, C.G., Williams, C.B. Induced and NATURAL Regulatory T Cells in the Development of Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*; 19(8): 1772-1788. 2013.
 27. Chen, W., Konkel, J.E. TGF-beta and 'adaptive' FoxP3+ regulatory T cells. *J Mol Cell Biol* ;2:30–6. 2010.
 28. Baroja, M.L., Kirjavainen, P.V., Hekmat, S., Reid, G. Anti-inflammatory effects of probiotic yogurt in inflammatory bowel disease patients. *Clinical and Experimental Immunology*, 149: 470-479. 2007.
 29. Walter, J., Britton, R.A., Roos, S. Host-microbial symbiosis in the vertebrate gastrointestinal tract and the *Lactobacillus reuteri* paradigm. *PNAS Direct Submission*, vol 108, suppl.1: 4645-4652. 2011.
 30. Möndel, M., Schroeder, B.O., Zimmermann, K., Huber, H., Nuding, S., Beisner, J., Fellermann, K., Stange, E.F., Wehkamp, J. Probiotic *E. coli* treatment mediates antimicrobial human beta-defensin synthesis and fecal excretion in humans. *Mucosal Immunol.* 2,166–172. 2009.
 31. Basu, R., O'Quinn, D.B., Silberberger, D.J., Schoeb, T.R., Fouser, L., Ouyang, W., Hatton, R.D., Weaver, C.T. Th22 Cells are an Important Source of IL22 for Host Protection against Enteropathogenic Bacteria. *Immunity* 14; 37(6): 1061-1075. 2012.
 32. Wen, J., Yang, P., Chen X., Fang, Y., Chang, Q., Li, C., Zhang, C. The role of Th17/Treg balance and Th22 cell in the pathogenesis of DSS-induced colitis in mice. *European Journal of Inflammation*, 1-8. 2015.
 33. Loera-Arias, M.J., Villatoro-Hernandez, J., Parga-Castillo, M.A., Salcido-Montenegro, A., Barboza-Quintana, O., Munoz-Maldonado, G.E., et al. Secretion of biologically active human interleukin 22 (IL-22) by *Lactococcus lactis*. *Biotechnol Lett*, 36:2489-2494. 2014.

