

## Efek Kefir terhadap Respons Imun Sukarelawan Sehat Secara *in vitro*

### *The effect of Kefir on The Immune Response of Healthy Volunteers In Vitro*

Desie Dwi Wisudanti

Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Jalan Kalimantan No. 37 Kampus Tegalboto Jember 68121

e-mail korespondensi: [desie.fk@unej.ac.id](mailto:desie.fk@unej.ac.id)

#### Abstrak

Kefir merupakan bahan pangan fungsional probiotik, terbuat dari susu yang difermentasi dengan *kefir grains* yang mengandung berbagai jenis bakteri dan ragi yang bermanfaat. Telah banyak dilakukan penelitian tentang efek kefir per oral pada sistem kekebalan tubuh, tetapi sedikit penelitian yang membuktikan efek komponen bioaktif kefir yaitu peptida dan eksopolisakarida (kefiran), terhadap respons imun. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan efek supernatan kefir susu kambing terhadap respons imun sukarelawan sehat secara *in vitro*. Penelitian dilakukan pada 15 sukarelawan sehat, yang diisolasi PBMC-nya dari *whole blood*, kemudian dibagi menjadi 5 kelompok (K-, P1, P2, P3 dan P4) sebelum dilakukan kultur selama 4 hari. Hasil kultur diperiksa persentase sel T CD4<sup>+</sup>, sel T CD8<sup>+</sup>, IFN- $\gamma$ , IL-4 menggunakan flowsitometri dan kadar IL-2, IL-10 menggunakan metode ELISA. Hasilnya didapatkan kefir tidak mempengaruhi persentase sel T CD4<sup>+</sup> dan Sel T CD8<sup>+</sup>. Semakin tinggi konsentrasi kefir yang diberikan, maka semakin tinggi kadar IFN-  $\gamma$  dan IL-4 yang disekresikan, namun terjadi penurunan pada kadar IL-2. Peningkatan signifikan terjadi pada kadar IL-10 kultur PBMC yang diberikan kefir dengan berbagai konsentrasi ( $p < 0,01$ ), terutama pada konsentrasi 1%. Hasil tersebut juga menunjukkan efek penting komponen bioaktif kefir terhadap respons imun. Kesimpulan dari penelitian ini adalah kefir dapat meningkatkan respons imun, melalui stimulasi sekresi IL-10 secara *in vitro*.

Kata kunci: kefir, eksopolisakarida, peptida, respons imun, sitokin IL-10

#### Abstract

*Kefir is a functional foodstuff of probiotics, made from fermented milk with kefir grains containing various types of beneficial bacteria and yeast. There have been many studies on the effects of oral kefir on the immune system, but few studies have shown the effect of bioactive components from kefir (peptides and exopolysaccharides/ kefiran), on immune responses. The purpose of this study was to prove the effect of kefir supernatant from milk goat on healthy immune volunteer response in vitro. The study was conducted on 15 healthy volunteers, then isolated PBMC from whole blood, then divided into 5 groups (K-, P1, P2, P3 and P4) before culture was done for 4 days. The harvested cells from culture were examined for the percentage of CD4<sup>+</sup> T cells, CD8<sup>+</sup> T cells, IFN- $\gamma$ , IL-4 using flowsitometry and IL-2 levels, IL-10 using the ELISA method. The results obtained that kefir do not affect the percentage of CD4<sup>+</sup> T cells and CD8<sup>+</sup> T cells. The higher the concentration of kefir given, the higher levels of secreted IFN-  $\gamma$  and IL-4, but a decrease in IL-2 levels. Significant enhancement occurred at levels of IL-10 culture PBMC given kefir with various concentrations ( $p < 0.01$ ), especially at concentrations of 1%. These results also show the important effects of kefir bioactive components on immune responses. The conclusion of this study is that kefir can improve the immune response, through stimulation of IL-10 secretion in vitro.*

*Keywords: kefir, exopolysaccharides, peptide, immune response, IL-10 cytokine*

## Pendahuluan

Bakteri yang termasuk flora normal berperan dalam melindungi tubuh secara imunologik dengan menciptakan penghalang melawan kolonisasi bakteri patogen (Calder and Kew, 2002). Penghalang tersebut dapat dipelihara dengan cara menyediakan suplemen berisi bakteri hidup yang diinginkan disebut sebagai probiotik. Organisme probiotik dapat ditemukan dalam makanan fermentasi, antara lain bakteri asam laktat (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecium*) dan *Bifidobacterium spp.* Bakteri probiotik tersebut dapat berkompetisi dengan patogen dalam memperebutkan nutrisi, juga dapat meningkatkan respons imun usus terhadap bakteri patogen (Calder and Kew, 2002). Selain itu, makanan yang difermentasi memiliki daya tahan lebih lama dalam penyimpanan dan peningkatan nilai gizi jika dibandingkan dengan makanan yang tidak difermentasi (Farnworth, 2005). Terdapat beberapa hasil olahan fermentasi susu seperti keju, yoghurt, kefir, kourmis dan yakult.

Kefir merupakan bahan pangan fungsional probiotik, terbuat dari susu yang difermentasi dengan *kefir grains* yang mengandung sekitar 40 jenis bakteri (*beneficial bacteria*) dan ragi (*yeast*) yang bermanfaat (Farnworth, 2005; Magalhaes et al., 2011). Kefir mirip dengan yogurt, tetapi kefir lebih encer dan gumpalan susunya lebih lembut. Keunikan kefir dibandingkan susu fermentasi lain adalah cara pembuatannya yang menggunakan biji-biji kefir (*kefir grains*), berisi berbagai mikroorganisme yang bermanfaat (Sirirat, 2012). Yogurt lebih dikenal daripada kefir, tetapi analisis terhadap komposisi kefir menunjukkan adanya senyawa-senyawa bioaktif yang memberikan manfaat unik bagi kesehatan. Pada saat proses fermentasi akan terbentuk peptida dan eksopolisakarida, yang kaya senyawa bioaktif. Kefir merupakan probiotik kompleks karena banyaknya mikroorganisme di dalamnya dan beraneka ragam senyawa bioaktif yang dapat terbentuk selama fermentasi (Farnworth, 2005).

Banyak penelitian mengenai manfaat kefir bagi kesehatan, baik dengan menggunakan supernatan kefir, *kefir grains* ataupun kefir itu sendiri, khususnya perannya sebagai imunomodulator. Fungsi imunomodulator adalah memperbaiki sistem imun yaitu dengan cara stimulasi (imunostimulan) atau menekan/ menormalkan reaksi imun yang abnormal (imunosupresan). Imunomodulator terutama

dibutuhkan untuk kondisi dimana status sistem imun akan mempengaruhi kondisi pasien dan penyebaran penyakit, seperti pada kasus terapi ajuvan yang melibatkan infeksi bakteri, fungi atau virus (Tjandrawinata et al., 2005). Sel imun manusia terdiri atas sistem imun alami (*innate immune system*) dan sistem imun adaptif (*adaptive immune system*). Pada sistem imun adaptif, Sel T CD4<sup>+</sup> akan berdiferensiasi menjadi sel T<sub>H</sub>1 dan sel T<sub>H</sub>2, bergantung pada jenis antigen yang masuk ke dalam tubuh. Diferensiasi sel T<sub>H</sub>1 diperantarai oleh beberapa sitokin antara lain IFN- $\gamma$  dan IL-2, yang akan mengaktifkan fungsi makrofag sedangkan sel T<sub>H</sub>2 diperantarai oleh sitokin IL-4 dan IL-10 sebagai sitokin antiinflamasi. Sitokin sel T<sub>H</sub>1 dan sel T<sub>H</sub>2 dapat meregulasi sekresi antar sitokin dan bahkan dapat saling menghambat aktivitas masing-masing sitokin serta merubah keseimbangan sitokin yang disekresikan (Abbas and Litchman, 2010).

Beberapa penelitian tentang efek pemberian kefir per oral terhadap sistem imun antara lain penelitian terhadap supernatan kefir yang diberikan secara oral pada tikus terbukti mampu mengaktifkan sel imunitas alami seperti merangsang proliferasi sel IgA<sup>+</sup> dan sitokin-sitokin tertentu (Farnworth, 2008). Komponen dinding sel dan sitoplasma beberapa jenis bakteri asam laktat menunjukkan efek sebagai imunostimulan (Hong et al., 2008). Pada penelitian lainnya, kefir mampu memodulasi sistem imun mukosa bergantung dengan dosis (Farnworth, 2005) dan memodulasi respons imun pada kultur PBMC (*peripheral blood mononuclear cell*) pasien tuberkulosis paru dewasa (Raras et al., 2015). Kefir mengandung beberapa senyawa aktif yang baru sedikit diketahui jenisnya karena terbatasnya penelitian tentang kefir terutama dari susu kambing. Penelitian tentang kefir banyak yang meneliti efek mikroorganisme di dalam kefir terhadap sistem imun, namun masih sedikit penelitian tentang efek komponen bioaktif kefir, khususnya kefir susu kambing, terhadap respons imun.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian kefir susu kambing pada kultur PBMC sukarelawan sehat melalui perhitungan persentase sel T CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, IFN- $\gamma$ , IL-4, dan kadar sitokin IL-2, IL-10.

## Metode Penelitian

**Sampel kefir** Kefir dalam penelitian ini berasal dari fermentasi susu kambing Ettawa, dibuat oleh

Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, dinyatakan sebagai kefir dengan konsentrasi 100%. Kefir diberikan pada kultur sel PBMC dalam berbagai macam konsentrasi yaitu 0,5%, 1%, 2%, 5% dan 10% (v/v, supernatan/ medium). Kefir disimpan di dalam lemari es tidak lebih dari 1 bulan, sebelum disimpan disentrifugasi terlebih dahulu dan kemudian supernatannya disaring dengan filter 0,2 mikron, kemudian ditambahkan pada kultur atau disimpan pada suhu  $-20^{\circ}$  C. Konsentrasi kefir ini ditentukan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Vinderola *et al.* (2005) dan juga *trial* yang dilakukan peneliti di laboratorium. Konsentrasi kefir dengan pengenceran 10% menyebabkan medium berubah warna menjadi kekuningan karena keasaman dari kefir yang digunakan, sehingga konsentrasi tersebut tidak digunakan agar tidak mempengaruhi hasil kultur.

**Sampel penelitian** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental*) laboratorik dengan menggunakan *post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* untuk membuktikan pengaruh pemberian supernatan kefir terhadap persentase sel T CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, IFN- $\gamma$ , IL-4, kadar sitokin IL-2 dan IL-10 pada kultur *peripheral blood mononuclear cell* (PBMC) yang diisolasi dari sukarelawan sehat dewasa. Sebanyak 15 orang berpartisipasi dalam penelitian ini dengan menandatangani persetujuan setelah penjelasan atau PSP (*informed consent*). Penelitian ini telah mendapatkan ijin dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang mengeluarkan surat keterangan kelayakan etik.

**Pengambilan darah dan isolasi PBMC** Setelah dilakukan pemilihan sampel, kemudian dilakukan pengambilan darah sampel pada vena mediana cubiti sebanyak 10 ml, yang selanjutnya dilakukan isolasi PBMC dengan *ficoll hypac* (Biolegend, San Diego, CA, USA).

**Kultur PBMC** Hasil isolasi PBMC dikultur pada 96-well plate sebanyak  $5 \times 10^5$  sel/ ml dalam setiap sumurnya, dengan menambahkan medium RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, USA), berisi 2 mM glutamin (Gybco, USA), *Penicilin-streptomisin* 10.000 U/ml (Gybco, USA), dan 10% *Fetal Bovine Serum* (Gybco, USA), kemudian diinkubasi selama 4 hari pada suhu  $37^{\circ}$ C dengan 5% CO<sub>2</sub>. Sel dikultur setelah mendapatkan suplementasi kefir berbagai konsentrasi dengan rincian pembagian kelompok sampel didapatkan 5 kelompok, yaitu K (kelompok kontrol), P1 (kelompok perlakuan kefir konsentrasi 0,5%), P2 (kelompok perlakuan kefir konsentrasi

1%), P3 (kelompok perlakuan kefir konsentrasi 2%), P4 (kelompok perlakuan kefir konsentrasi 5%).

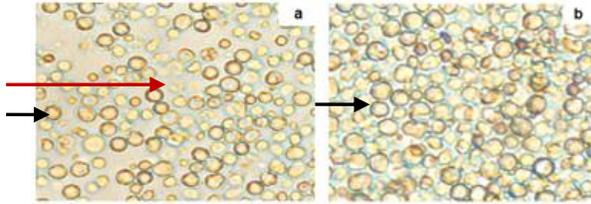
**Analisis Flowsitometri** Untuk menilai ekspresi sel T CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, IFN- $\gamma$ , dan IL-4, sel yang diberi perlakuan kefir dikultur selama 4 hari, kemudian disentrifugasi pada 2.500 rpm selama 3 menit. Supernatan dipisahkan dan disimpan pada suhu  $-20^{\circ}$  C sampai digunakan untuk mengukur kadar IL-2 dan IL-10 dengan ELISA, sedangkan pellet diberi pewarnaan antibodi *anti human* CD4, CD8, IFN dan IL-4 (Biolegend, USA) dan langsung dianalisis dengan flowsitometri (BD, USA).

**Enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELISA)** Setelah diinkubasi, supernatan dari setiap well diambil dan dianalisis kadar IL-2 dan IL-10 menggunakan metode ELISA sandwich (Biolegend, USA) sesuai dengan protokol pabrik. Densitas optik diukur pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *automated ELISA reader ELX 800* (BioTek, Winooski, VT, USA) dan kadar sitokin ditentukan berdasarkan pada kurva semi logaritma yang dibentuk menggunakan standar.

**Analisis statistik** Data dianalisis secara statistik menggunakan program perangkat lunak SPSS 20 for Windows. Sebelum dilakukan analisis data, data diuji normalitasnya dengan menggunakan uji Kolmogorov Smirnov dan uji homogenitas data dengan menggunakan uji Levenne. Dilanjutkan dengan uji *One way Anova*, dengan derajat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ), bermakna bila  $p < 0,05$ . Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda, dilakukan *post hoc test*. Data disajikan sebagai *mean  $\pm$  SEM (standard error of mean)*.

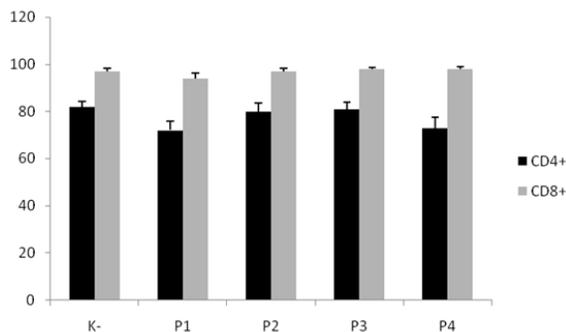
## Hasil Penelitian

Kultur PBMC sukarelawan sehat dewasa dilakukan selama 4 hari. Sebelumnya dilakukan *trial* kultur selama 1 hari, 2 hari, 3 hari dan 4 hari, didapatkan hasil dengan jumlah sel mononuklear (monosit dan limfosit) terbanyak pada kultur 4 hari, ditunjukkan dengan sel mononuklear yang memenuhi *plate* kultur, sehingga untuk selanjutnya dilakukan kultur selama 4 hari. Hasil pengamatan kultur sel PBMC sukarelawan sehat dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1 Pengamatan Kultur Sel PBMC:** (a) hari pertama, tampak sel limfosit dan sel monosit dalam *plate* kultur, (b) setelah 4 hari kultur, tampak sel hampir memenuhi seluruh lapang pandang. Sel tampak semakin bertambah jumlahnya, dan mulai saling menempel satu sel dengan sel yang lain, sel mencapai tahap konfluensi. Pengamatan menggunakan *inverted microscope* (200x), tanpa pewarnaan. Tanda panah merah menunjukkan sel monosit. Tanda panah hitam menunjukkan limfosit.

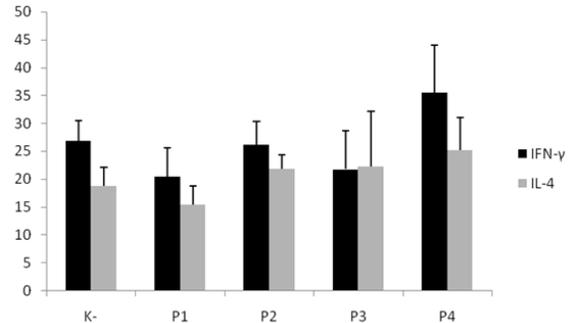
**Aktivasi sel T CD4<sup>+</sup> dan Sel T CD8<sup>+</sup> pada sel PBMC yang dipapar kefir** Hasil pengukuran persentase sel T CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup> menggunakan flowsitometri (Gambar 2), diketahui bahwa pemberian kefir dengan berbagai konsentrasi (0,5%, 1%, 2% dan 5%) tidak memberikan pengaruh pada persentase sel T CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup>. Persentase sel T CD8<sup>+</sup> yang disekresikan pada semua kelompok (K-, P1, P2, P3 dan P4) menunjukkan jumlah yang sedikit lebih banyak daripada persentase sel T CD4<sup>+</sup>, namun tidak berbeda signifikan. Maka pada semua kelompok tersebut, baik kelompok yang diberi kefir maupun yang tidak diberi kefir, menunjukkan keseimbangan jumlah sel T CD4<sup>+</sup> dan sel T CD8<sup>+</sup> serta pemberian kefir tidak mempengaruhi keseimbangan tersebut.



**Gambar 2** Persentase sel T CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup> pada kultur PBMC sukarelawan sehat yang dipapar berbagai konsentrasi kefir

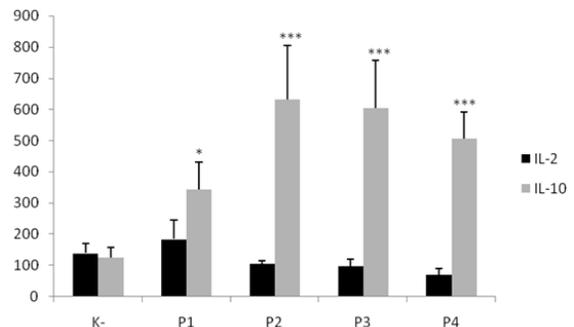
**Produksi sitokin ekstraseluler pada sel PBMC yang dipapar kefir** Hasil pengukuran kadar sitokin IFN- $\gamma$  dan IL-4 menggunakan flowsitometri (Gambar 3), menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kefir yang diberikan, maka semakin tinggi kadar IFN- $\gamma$  dan IL-4 yang disekresikan, namun tidak terjadi peningkatan signifikan. Pada semua kelompok baik

yang diberi kefir maupun yang tidak diberi kefir, tidak terjadi perubahan keseimbangan antara sitokin sel T<sub>H</sub>1 dan sitokin sel T<sub>H</sub>2 yang disekresikan.



**Gambar 3** Kadar sitokin IFN- $\gamma$  dan IL-4 pada kultur PBMC sukarelawan sehat yang dipapar berbagai konsentrasi kefir

**Produksi sitokin intraseluler pada sel PBMC yang dipapar kefir** Hasil pengukuran kadar sitokin IL-2 dan IL-10 menggunakan metode ELISA (Gambar 4), menunjukkan bahwa pada sampel sukarelawan sehat dewasa yang mendapatkan kefir dengan konsentrasi berbeda, terjadi penekanan kadar sitokin IL-2 dan peningkatan IL-10 mulai dari P1 sampai P4. Pada kelompok kontrol negatif, yaitu kultur PBMC sukarelawan sehat dewasa yang tidak diberi kefir terjadi keseimbangan antara kadar sitokin IL-2 dan IL-10 yang disekresikan. Namun dengan pemberian kefir, terjadi peningkatan signifikan kadar sitokin IL-10 pada semua kelompok perlakuan, terutama pada P2, P3 dan P4 ( $p < 0,01$ ). Sedangkan kadar sitokin IL-2 mengalami penurunan, terlihat pada kelompok P4 dengan kadar IL-2 terendah. Sehingga terjadi perubahan keseimbangan kadar sitokin ekstraseluler yang disekresikan yaitu ke arah sitokin sel T<sub>H</sub>2.



**Gambar 4** Kadar sitokin IL-2 dan IL-10 pada kultur PBMC sukarelawan sehat yang dipapar berbagai konsentrasi kefir. (\*)  $p < 0,05$ ; (\*\*\*)  $p < 0,01$

**Tabel 2** Produksi sitokin sel T<sub>h</sub>1 dan sel T<sub>h</sub>2 dari kultur sel PBMC sukarelawan sehat selama 4 hari

Konsentrasi kefir	SI (%)		SE (pg/ml)	
	Kadar IFN- $\gamma$	Kadar IL-4	Kadar IL-2	Kadar IL-10
0 (K-)	26,91 $\pm$ 3,51	18,8 $\pm$ 3,35	139 $\pm$ 30,12	125 $\pm$ 31,66
0,5% (P1)	20,47 $\pm$ 5,14	15,46 $\pm$ 3,38	184 $\pm$ 60,81	343 $\pm$ 86,77
1% (P2)	26,15 $\pm$ 4,26	21,89 $\pm$ 2,39	105 $\pm$ 8,19	632 $\pm$ 174,11
2% (P3)	21,77 $\pm$ 6,88	22,24 $\pm$ 9,96	98 $\pm$ 21,63	603 $\pm$ 153,53
5% (P4)	35,56 $\pm$ 8,46	25,17 $\pm$ 5,94	69 $\pm$ 20	506 $\pm$ 84,72

## Pembahasan

Beberapa studi telah dilakukan dengan hewan model mengenai kefir yang memiliki efek sebagai imunomodulator yang membuktikan bahwa kefir merangsang sekresi sitokin sel T<sub>h</sub>1, termasuk IL-2, yang diketahui berperan dalam melawan bakteri patogen melalui TLR-2 pathway (Hong *et al.*, 2008). Namun demikian belum ada penelitian yang menggunakan isolasi PBMC dari sukarelawan sehat untuk membuktikan efek supernatan kefir dari susu kambing terhadap sistem imun. Penelitian ini merupakan yang pertama kali membuktikan efek imunomodulator kefir dari susu kambing pada sukarelawan sehat secara *in vitro*, dengan menilai persentase sel T CD4<sup>+</sup>, sel T CD8<sup>+</sup>, IFN- $\gamma$  dan IL-4, serta kadar IL-2 dan IL-10, pada kultur sukarelawan sehat dewasa yang dipapar kefir dengan berbagai konsentrasi.

Dari hasil penelitian ini, terbukti bahwa pemberian supernatan kefir dapat meningkatkan kadar sitokin IL-10 yang merupakan sitokin sel T<sub>h</sub>2, dengan sekresi tertinggi pada kefir konsentrasi 1%. Hasil ini serupa dengan studi Raras *et al.* (2015) yang menilai efek pemberian kefir secara *in vitro* pada pasien tuberkulosis paru dewasa, membuktikan bahwa kefir dapat menginduksi sekresi sitokin IL-10. Sedangkan pada penelitian Vinderola *et al.* (2005), pada tikus sehat yang diberikan kefir per oral selama 7 hari berturut-turut, terjadi peningkatan signifikan pada IL-4, IL-2 dan IgA<sup>+</sup>. Pemberian kefir juga meningkatkan kadar IFN- $\gamma$ , IL-10 dan IL-6 pada pengenceran 1/100 (konsentrasi 1%) (Vinderola *et al.*, 2005). Hasil tersebut sedikit berbeda dengan hasil penelitian kami, kemungkinan disebabkan oleh jenis kefir yang digunakan berbeda dan pemberian kefir yang berbeda yaitu per oral pada tikus, sehingga dapat dipastikan bahwa terdapat peran mikroorganisme secara langsung dalam merangsang respons imun, khususnya respons imun mukosa.

Sitokin IL-10 diproduksi oleh bermacam-macam sel imun antara lain monosit teraktivasi, sel T (CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup>), makrofag dan sel dendritik (Tadokera *et al.*,

2013). Sitokin IL-10 memiliki efek biologis yang beragam, termasuk sebagai imunoregulator dan efek antiinflamasi pada tipe sel yang berbeda. Fungsi IL-10 terutama meregulasi sitokin sel T<sub>h</sub>1, MHC II (*major histocompatibility class II*) dan molekul B7, meregulasi ekspresi dari molekul kostimulator pada makrofag yang penting untuk mengoptimalkan aktivasi sel T. Dengan menghambat ekspresi dari molekul-molekul tersebut pada APC (*antigen presenting cells*), IL-10 secara langsung menekan aktivasi sel T dan produksi sitokin yang berasal dari sel T, seperti IFN- $\gamma$  dan IL-2 (Tadokera *et al.*, 2013). Hal ini sesuai dengan penelitian kami yaitu terjadi penekanan terhadap sekresi sitokin IL-2 dengan pemberian kefir yang semakin meningkat konsentrasinya. Sitokin IL-10 yang meningkat pada pola keseimbangan T<sub>h</sub>1/T<sub>h</sub>2, menunjukkan peningkatan diferensiasi sel T<sub>h</sub>2 dan menekan aktivitas sel T<sub>h</sub>1 (Strieter *et al.*, 2002).

Sel T<sub>h</sub>1 diketahui penting dalam inflamasi, imunitas sel T sitotoksik, komplemen (ikatan pada Fc $\gamma$ -R) sebagai bagian dalam pertahanan melawan organisme intraseluler, sedangkan sel T<sub>h</sub>2 berperan dalam menghasilkan antibodi. Sitokin IL-10 mendorong pada terbentuknya sitokin sel T<sub>h</sub>2 dengan cara menghambat produksi IFN- $\gamma$  oleh sel Imfosit T, sebagian melalui penekanan sintesis IL-12 oleh sel aksesori. Berdasarkan hal tersebut, maka IL-10 membantu merangsang proliferasi dan diferensiasi sel B, yang penting bagi pertahanan tubuh melawan parasit usus, menetralkan toksin bakteri dan pertahanan lokal pada mukosa. Sitokin IL-10 menekan produksi sitokin proinflamasi dan kemampuan APC (monosit/ makrofag dan sel dendritik) (Asadullah *et al.*, 2003).

Terdapat beberapa sitokin yang termasuk famili dari IL-10 antara lain IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26 dan lebih jauh terkait dengan IL-28A, IL-28B dan IL-29. Sitokin-sitokin tersebut muncul sebelum respons imun adaptif, menimbulkan mekanisme pertahanan tubuh yang beragam, khususnya dari sel epitel selama terjadi infeksi. Sitokin-sitokin ini penting untuk memelihara integritas dan homeostasis jaringan epitel, dapat mendorong respons imun alami dari jaringan epitel untuk membatasi kerusakan yang disebabkan oleh infeksi virus dan bakteri. Sitokin ini juga dapat memudahkan proses penyembuhan jaringan disebabkan oleh infeksi atau inflamasi. Sitokin IL-10 dapat menekan respons proinflamasi dan membatasi kerusakan yang tidak penting akibat inflamasi. Dengan demikian, sitokin dari famili IL-10 memiliki fungsi yang sangat

diperlukan dalam banyak penyakit menular dan inflamasi (Ouyang *et al.*, 2011).

Interleukin-10 sebagai sitokin imunoregulator yang berperan penting dalam inflamasi dan reaksi imun, merupakan antiinflamasi poten dan memiliki aktivitas immunosupresif pada fungsi sel mieloid yang menjadi dasar penggunaannya pada penyakit inflamasi akut dan kronik, juga berperan pada penyakit seluler autoimun seperti multipel sklerosis (MS) (Beebe *et al.*, 2002). IL-10 dapat digunakan sebagai terapi pada beberapa model hewan dengan artritis untuk menurunkan inflamasi, infiltrat seluler dan kerusakan sendi. Terdapat beberapa penyakit dimana IL-10 berperan sebagai homeostatik yang penting seperti intestinal bowel disease (kolitis ulseratif dan Crohn' disease). IL-10 juga diketahui berperan dalam melindungi hepar pada hewan hepatitis yang diinduksi dengan *concavalin* A atau galaktosamin dan lipopolisakarida. Pada hewan model asma alergi, IL-10 menunjukkan kemampuan menghambat inflamasi saluran nafas dan *responsiveness* yang diinduksi oleh alergen, menurunkan produksi IgE spesifik alergen dan meningkatkan IgG spesifik alergen (Iyer and Cheng, 2012).

Dari penelitian ini membuktikan bahwa peran kefir sebagai imunomodulator, tidak hanya diperankan oleh mikroorganisme yang ada di dalam kefir, tetapi juga membuktikan efek penting substansi yang dikeluarkan selama proses fermentasi berlangsung untuk menghasilkan kefir. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Farnworth (2005), yang membuktikan bahwa stimulasi sistem imun juga terjadi disebabkan oleh kerja dari ekso polisakarida (kefiran) yang terdapat dalam *kefir grains*. Ekstraksi kefiran dari *kefir grains* menghasilkan fraksi polisakarida larut air yang kemudian diberikan pada tikus, terjadi penurunan pertumbuhan tumor dihubungkan dengan respons imun seluler dan tampak bahwa dosis total polisakarida menentukan efektivitasnya. Fraksi tersebut memiliki aktivitas sebagai imunomodulator dengan menstimulasi sel *Peyer's patch*, menyebabkan sekresi fraksi yang larut air, sehingga meningkatkan respons mitogenik dari timosit dan splenosit pada tikus normal (Farnworth, 2005). Suplementasi kefir dan supernatannya (*kefir cell-free fraction/ KF*) pada tikus model kanker payudara selama 2 hari menunjukkan hambatan terhadap perkembangan tumor, dengan menginduksi turunnya IL-6 dan meningkatkan kadar IL-10 sebagai sitokin regulator pada semua sampel (Farnworth, 2008).

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah konsentrasi kefir yang digunakan kecil, karena konsentrasi besar sangat asam dan dapat mempengaruhi hasil kultur, padahal konsumsi kefir adalah dengan konsentrasi 100%. Maka untuk mengetahui konsentrasi kefir yang dapat memberikan efek optimum, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan kefir konsentrasi lebih tinggi. Efek kefir tanpa pengenceran dan diberikan dalam jangka waktu lebih lama akan menarik untuk diamati pada sistem imun sukarelawan sehat yang meminum kefir susu kambing dalam jangka waktu lebih lama untuk dapat merangsang respons imun.

### Kesimpulan

Kefir susu kambing dapat meningkatkan respons imun melalui stimulasi sekresi IL-10 secara *in vitro*. Peran kefir sebagai imunomodulator, tidak hanya diperankan oleh mikroorganisme yang ada di dalam kefir, tetapi juga membuktikan efek penting substansi (komponen bioaktif) yang dikeluarkan selama proses fermentasi berlangsung untuk menghasilkan kefir.

### Daftar Pustaka

- Abbas AK and Litchman AH. 2010. *Basic Immunology: Functions and Disorders of Immune System*. 3<sup>rd</sup> Edition. Elsevier Inc. Philadelphia.
- Asadullah K, Sterry W, Volk HD. 2003. Interleukin-10 Therapy: Review of a New Approach. *Pharmacological Reviews*. **55** (2): 242-263.
- Beebe AM, Cua DJ, de Waal MR. 2002. The Role of Interleukin-10 in Autoimmune Disease: Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and Multiple Sclerosis (MS). *Cytokine Growth Factor Reviews*. **13** (4-5): 403-412.
- Calder PC and Kew S. 2002. The Immune System: a Target for Functional Foods?. *British Journal of Nutrition*. **88**: 165-176.
- Farnworth ER. 2005. Kefir-a Complex Probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*. **2** (1): 1-17
- Farnworth ER. 2008. *Effects of The Supernatants of Fermented Milks on Health and Disease*. Handbook of Fermented Functional Food. 2<sup>nd</sup> Edition. The Copyright Clearance Center Inc. Danver. 215-221.

- Hong W, Chen H, Chen Y, Chen M. 2008. Effects of Kefir Supernatant and Lactic Acid Bacteria Isolated from Kefir Grain on Cytokine Production by Macrophage. *International Dairy Journal*. **19** (2009): 244-251
- Iyer SS and Cheng G. 2012. Role of Interleukin 10 Transcriptional Regulation in Inflammation and Autoimmune Disease. *Critical Reviews in Immunology*. **32** (1): 23-63.
- Magalhaes KT, Pereira GVM, Campos CR, Dragone G, Schwan F. 2011. Brazilian Kefir: Structure, Microbial Communities and Chemical Composition. *Brazilian Journal of Microbiology*. **42**: 693-702.
- Ouyang W, Rutz S, Crelli NK, Valdez PA, Hymowitz SG. 2011. Regulation and Functions of the IL-10 Family of Cytokines in Inflammation and Disease. *Abstracts Annual Review of Immunology*. **29**: 71-109.
- Raras TYM, Rusmini H, Wisudanti DD, Chozin IN. 2015. Kefir Stimulates Anti-Inflammatory Response in TB-AFB (+) Patients. *Pakistan Journal of Nutrition*. **14** (6): 330-334
- Sirirat D. Kefir: 2012. Fermented Milk from Various Microorganisms. *KKU Science Journal*. **40** (2): 366-379.
- Strieter RM, Belperio JA, Keane MP. 2002. Cytokines in Innate Host Defense in The Lung. *The Journal of Clinical Investigation*. **109**: 699-705.
- Tadokera R, Wilkinso, KA, Meintjes GA, *et al.* 2013. Role of the Interleukin-10 Family of Cytokines in Patients With Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome Associated With HIV Infection and Tuberculosis. *The Journal of Infectious Diseases*. **207**: 1148-1156.
- Tjandrawinata RR, Maat S, Noviarny D. 2005. Effect of Standardized *Phyllanthus niruri* Extract on Changes in Immunologic Parameters: Correlation Between Pre-clinical and Clinical Studies. *Medika*. **XXXI** (6): 367-371.
- Vinderola CG, Duarte J, Thangavel D, Perdigon G, Farnworth E. 2005. Immunomodulating Capacity of Kefir. *Journal of Dairy Research*. **72**: 195-202.