PENGARUH MINUMAN PROBIOTIK
MENGANDUNG Lactobacillus casei
Shirotta STRAIN TERHADAP
PENYEMBUHAN LESI
MUKOSA MULUT
(Kajian pada tikus Sprague dawleys)

oleh:
Janti Sudiono¹, Gabriella Nasser², Angelina³, Okkinardo Arief⁴

ABSTRACT
Effect Of Probiotic Drinks Contain Lactobacillus casei Shirotta Strain On The
Healing Of Oral Mucosa Lesion (study on Sprague dawleys Rats).

Probiotic drink which contains living microorganism has important role in health by influ-
encing immune system that can decrease inflammation. Lactobacillus casei Shirotta strain
can influence immune system through cellular and humoral mechanism. The aim of this
research is to determine the effect of probiotic drink contains Lactobacillus casei Shirotta
strain on the healing process of oral mucosa lesion. The total of 36 Sprague dawley rats
used in this study were divided randomly into 4 groups (n=9): group K- (negative control),
group P-1 (treatment by systemic application of probiotic solution), group P-2 (treatment by
topical application of probiotic solution), group K+ (positive control by topical application
of hyaluronic acid gel). The oral mucosa lesion was made by rubbing the labial mucosa with
H₂O₂ 3% solution. The healing process was observed histopathologically on day 2, 4 and
7. Based on Kruskal-Wallis test, there was statistically significant difference between trea-
tment groups ($p$ value = 0.001 < 0.05). On day 2, there was not statistically significant differ-
ence ($MRD = 4.67 <5.33$) among all groups. On day 4, P-1 and P-2 groups had statistically
significant difference with K- and K+ groups with $MRD = 14$ and $9.33 > 5.33$ respectively.
On day 7, P-1 group showed the same MRD with K+ group, but had statistically significant
difference with K- and P-2 groups ($MRD = 6 > 5.33$). This study concluded that the pro-
biotic drink contains Lactobacillus casei Shirotta strain application either systemically or
topically may accelerate healing of oral mucosa lesion whereas the systemic application
more effective at late stage (day 7) while topical application showed more effective at early
stage (day 4).

Key words: probiotic drink, Lactobacillus casei Shirotta strain, healing of oral mucosa lesion.

ABSTRAK
Pengaruh Minuman Probiotik Mengandung Lactobacillus Casei Shirotta Strain Terha-
dap Penyembuhan Lesi Mukosa Mulut (Kajian pada tikus Sprague dawleys).

Minuman probiotik yang mengandung mikroorganisme hidup berperan penting bagi kese-
hatan dengan mempengaruhi sistem imun sehingga dapat mengurangi peradangan. Lact-
obacillus casei mempengaruhi sistem imun melalui mekanisme seluler dan humoral. Tu-
juan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek minuman probiotik yang mengandung
Lactobacillus casei strain Shirota terhadap proses penyembuhan lesi mukosa mulut. Sejumlah 36 tikus Sprague dawley digunakan dalam penelitian ini dibagi secara random dalam 4 kelompok (n=9): K- (kelompok kontrol negatif), P-1 (kelompok perlakuan dengan pemberian larutan probiotik secara sistemis), P-2 (kelompok perlakuan dengan pemberian larutan probiotik secara topikal), K+ (kelompok kontrol positif dengan aplikasi topikal gel asam hialuronik). Lesi mukosa mulut dibuat dengan menggosok mukosa labial menggunakan larutan H2O2 3%. Proses penyembuhan diamati secara histopatologi pada hari ke 2, 4, dan 7. Berdasarkan uji Kruskal Wallis, ada perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan (p=0,001<0,05). Pada hari ke 2, tidak ditemukan perbedaan bermakna antar kelompok (MRD=4,67<5,33). Pada hari ke 4, ditemukan perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan (P-1 dan P-2) dengan kelompok kontrol negatif (K-) dan kontrol positif (K+) dengan MRD=14 dan 9,33 (>5,33). Pada hari ke 7, kelompok P-1 menunjukkan nilai MRD yang sama dengan kelompok K+, namun menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok K- dan P-2 (MRD=6<5,33). Penelitian ini menyimpulkan bahwa aplikasi minuman probiotik yang mengandung Lactobacillus casei strain shirotab baik secara sistemik maupun topikal dapat mempercepat penyembuhan lesi mukosa mulut. Aplikasi sistemis lebih efektif pada stadium yang lebih lanjut (hari ke 7) sedangkan aplikasi topikal lebih efektif pada stadium awal (hari ke 4).

Kata-kata kunci: minuman probiotik, Lactobacillus casei strain Shirota, penyembuhan lesi mukosa mulut

PENDAHULUAN

Menurut WHO dan FAO, probiotik adalah mikroorganisme hidup yang jika diberikan dalam jumlah sesuai akan dapat memberikan efek baik atau kesehatan pada organisme lain atau inangnya. Probiotik pada dasarnya adalah bakteri hidup yang ditambahkan pada makanan yang mempunyai efek menguntungkan dengan meningkatkan keseimbangan flora usus.1,2 Probiotik berperan penting dalam kesehatan sistem pencernaan. Beberapa sumber juga mengatakan bahwa probiotik mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan memberikan pengaruh baik dalam flora usus manusia.3-6

Fungsi dari probiotik bermacam-macam, antara lain: membantu penyerapan nutrisi; membantu melawan pertumbuhan bakteri yang merugikan; dan berperan dalam ekosistem usus.2 Selain itu, ada beberapa kriteria probiotik yang baik, yaitu: mikro-organisme probiotik harus hidup; harus bisa melewati asam lambung; jumlah probiotik sesudah sampai usus besar adalah 10.000.000 (107); dapat melekat pada saluran pencernaan mausia; berkoloni dalam saluran pencernaan manusia; melakukan perlawanan terhadap

1 Bagian Patologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, (Prof. Janti Sudiono. drg.,MSDc).
2 Gabriella Nasseri
3 Angelina
4 Okkinando Ariy
Correspondence to :
Oral Pathology Department
Faculty of Dentistry, University Trisakti,
Jl. Kyai Tapa, Grogol, Jakarta 11440,
e-mail: jantish@hotmail.com
(Prof. Janti Sudiono. drg., MSDc).
bakteri pathogen.\(^7\)

Probiotik yang sudah banyak di kenal di antaranya *Lactobacillus*, *Streptococcus*, dan *Bifidobacteria*. Probiotik yang banyak digunakan adalah dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Makanan dan suplemen probiotik dalam industri makanan paling umum menggunakan bakteri asam laktat dengan tujuan tidak hanya memberikan rasa asam yang unik dari dairy food tersebut namun juga berperan dalam mengurangi pH yang membuat organisme yang merugikan untuk tumbuh lebih sedikit.\(^6,2\) Probiotik banyak disediakan dalam sumber alaminya seperti *Lactobacillus* pada yogurt.

*Lactobacillus casei* adalah spesies yang mudah beradaptasi, bisa diisolasi dari produk ternak segar dan fermentasi, produk pangan segar dan fermentasi. *Lactobacillus casei* mempunyai peran sebagai probiotik manusia dari segi industrial, yaitu sebagai kultur starter tunggal memproduksi asam untuk fermentasi susu, dan kultur khas untuk intensifikasi dan akselerasi perkembangan rasa dalam varietas keju yang dibuahi bakteri.\(^2\) Salah satu strain dari *Lactobacillus casei* adalah *Lactobacillus casei strain Shirota*, yang di samping berperan dalam regulasi usus, telah dibuktikan memiliki efek *immunoregulatory* seperti membantu menekan kambuhnya kanker kandung kemih dan mengurangi gejala alergi.\(^9,10\)

Penyembuhan luka adalah suatu proses koordinasi yang melibatkan faktor seluler, humoral dan unsur jaringan ikat. Respon *host* terhadap penyembuhan luka pada umumnya di bagi atas beberapa fase yang masing-masing saling berkaitan yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan maturasi.\(^11\) Fase inflamasi adalah adanya respon pembuluh darah dan selular. Respon inflamasi ditandai dengan akumulasi sel polimorfonuklear (PMN) yaitu neutrofil, di sekitar jaringan inflamasi. Fase ini dimulai dari hari 1-4 setelah terjadinya luka. Secara klinis fase inflamasi ditandai dengan: eritema, hangat, edema dan rasa sakit yang berlangsung sampai hari ke-3 atau hari ke-4. Pada awal fase ini kerasakan pembuluh darah akan me-nyebabkan keluarnya platelet yang berfungsi sebagai hemostasis. Platelet akan menutup pembuluh darah yang terbuka (*clot*) dan juga mengeluarkan substansi vasokonstriksi. Selanjutnya terjadi penempelan endotel yang akan menutup pembuluh darah.\(^11\)

Pada fase proliferasi, fibroblas akan aktif bergerak ke dalam daerah luka, kemudian akan berproliferasi serta mengeluarkan beberapa substansi kolagen, elastin, *fibronectin* dan *proteoglycan* yang berperan dalam rekonstruksi jaringan baru. Fungsi kolagen yang lebih spesifik adalah membentuk calon jaringan baru (*connective tissue matrix*) dan dengan dikeluarkannya substrat oleh fibroblas, memberikan pertanda bahwa makrofag, pembuluh darah baru dan juga fibroblas sebagai kesatuan unit dapat memasuki kawasan luka. Sejumlah sel dan pembuluh darah baru yang tertanam di dalam jaringan baru tersebut disebut sebagai jaringan “granulasi”. Tahapan granulasi terjadi kurang lebih pada hari ke-3 sampai ke-14 (tergantung ukuran luka). Gumpalan darah yang terbentuk pada tahapan sebelumnya akan digantikan oleh jaringan granulas- si. Kemudian luka terisi fibroblast dan luka pun menutup. Fibroblas mensintesis kolagen yang merupakan matrik penting dalam proses regenerasi luka, serta metabolisme dan proses pemeliharaan jaringan.\(^11\)

Fase maturasi dimulai pada hari 7 dan berakhir sampai kurang lebih 1 tahun. Tujuan dari fase ini adalah menyempurnakan terbentuknya
jaringan baru menjadi jaringan penyembuhan yang kuat dan berkualitas. Fibroblas sudah mulai meninggalkan jaringan granulasi. Untuk mencapai penyembuhan yang optimal diperlukan keseimbangan antara kolagen yang diproduksi dengan yang dipercahkan. Pada tahapan ini, jaringan granulasi akan digantikan oleh jaringan ikat yang baru dan pembuluh darah baru melalui proses degradasi dan apoptosis. 11

Makalah ini akan menguraikan hasil penelitian manfaat bakteri asam laktat Lactobacillus casei strain Shirota dalam minuman probiotik terhadap proses penyembuhan luka mulut pada hewan coba.

METODE PENELITIAN

Sampel yang digunakan adalah mukosa labial tikus Sprague dawley (N=36). Jumlah minimal sampel tiap kelompok perlakuan (r=6) ditetapkan berdasarkan rumus Federer (2005) 12: (t-1) (r-1) > 15 (t=jumlah kelompok perlakuan=4) (r=jumlah pengulangan). Pada penelitian ini jumlah sampel (n) untuk tiap kelompok perlakuan sebanyak 9. Luka pada mukosa labial hewan coba dibuat dengan cara menggosokkan larutan H202 3% menggunakan cotton bud selama 3 menit sebanyak 2 kali untuk menghasilkan suatu ulkus seperti yang terjadi pada stomatitis aphthosa. Pada kelompok perlakuan pertama (P-1) diberikan aplikasi minuman probiotik yang mengandung Lactobacillus casei strain Shirota secara sistemik sebanyak 2,5 cc/hari (n=9). Pada kelompok perlakuan kedua (P-2) diberikan minuman probiotik yang mengandung Lactobacillus casei strain Shirota pada permukaan luka sebanyak 2 kali sehari (n=9). Pada kelompok kontrol positif (K+) diberikan asam hialuronat (alloclar) secara topikal ke permukaan luka sebanyak 2 kali sehari (n=9). Pada kelompok kontrol negatif (K-) tidak diberikan medikamen (n=9). Sediaan mukosa labial (Gambar 1) dibuat pada hari ke-2, 5, dan 7 untuk dilakukan pengamatan proses penyembuhan secara mikroskopis dengan skoring:

Skor 1: jika ditemukan sel radang lebih banyak dari serat kolagen (Gambar 2).

Skor 2: jika ditemukan sel radang seimbang dengan serat kolagen (Gambar 3, 4)

Skor 3: jika ditemukan sel radang le-bih sedikit dari serat kolagen (Gambar 5, 6)

HASIL

Pemeriksaan histopatologi dari sedian mukosa bukan pada hari ke 2, 4, dan 7 tertera pada Tabel 1. Terlihat pada Gambar: 2 bahwa pada kelompok kontrol positif dan negatif, komponen sel radang masih merupakan gambaran dominan (skor=1)) sampai pada hari ke-4. Sebaliknya, pada kelompok perlakuan (pemberian sistemik) pada hari ke-4, tampak gambaran pembentukan kolagen sudah tampak seimbang dengan banyaknya sel radang yang berarti sudah mencapai skor = 2 (Gambar: 3 dan 4). Pada hari ke-7 pembentukan kolagen sudah merupakan gambaran dominan pada semua sampel dengan skor = 3 (Gambar: 5 dan 6). Hal yang hampir serupa ditemukan pada kelompok perlakuan (pemberian topikal), di mana pembentukan kolagen sudah tampak seimbang dengan banyaknya sel radang pada 1 sampel di hari ke-2 meskipun pada hari ke-7 gambaran dominan pembentukan kolagen hanya ditemukan pada 1 dari 3 sampel.
### Tabel: 1. Distribusi skor hasil pemeriksaan histopatologi berdasarkan perbandingan jumlah serat kolagen dengan sel radang.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Hari</th>
<th>Nomor sampel</th>
<th>Skor</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>Kelompok K- (kontrol negatif)</td>
</tr>
<tr>
<td>2</td>
<td>1</td>
<td>1</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>2</td>
<td>1</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>3</td>
<td>1</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>1</td>
<td>1</td>
</tr>
<tr>
<td>4</td>
<td>1</td>
<td>2</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>2</td>
<td>1</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>3</td>
<td>3</td>
</tr>
<tr>
<td>7</td>
<td>1</td>
<td>2</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>2</td>
<td>2</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>3</td>
<td>2</td>
</tr>
</tbody>
</table>

Hasil pemeriksaan histopatologi terlihat pada Gambar 1, 2, 3, 4.

#### Gambar: 1.
Mukosa labial normal.
Pewarnaan HE. Pembesaran 10x10

#### Gambar: 2.
Skor 1: Sel radang lebih banyak dibandingkan dengan serat kolagen.
Pewarnaan HE. Pembesaran 40 x10

#### Gambar: 3.
Skor 2: Sel radang seimbang dengan serat kolagen.
Pewarnaan HE. Pembesaran 40 x10

#### Gambar: 4.
Skor 2: Sel radang seimbang dengan serat kolagen.
Pewarnaan Von Gieson. Pembesaran 40 x10
Distribusi mean rank sampel pada hari ke-2, 4, dan 7 tertera pada Tabel 2. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan ada perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan (p value = 0,001<0.05). Dikatakan ada perbedaan bermakna (p value < 0.05) yaitu jika perbedaan mean rank (Tabel 2) antara 2 kelompok lebih besar dari pada critical value (5.33).

Pada hari ke-2, tidak terdapat perbedaan bermakna (mean rank = 4.67 <5.33) antara seluruh kelompok. Pada hari ke-4, kelompok P-1 menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kelompok K- dan kelompok K+ (mean rank = 14 > 5.33). Demikian pula dengan kelompok P-2 dengan kelompok K- dan kelompok K+ (mean rank = 9.33 > 5.33). Pada hari ke-7, kelompok P-1 menunjukkan mean rank yang sama dengan kelompok K+ namun menunjukkan perbedaan bermakna (mean rank = 6 > 5.33) terhadap kelompok P-2 dan kelompok K-.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi, pada hari ke-2 hampir se-
luruh kelompok mendapatkan skor 1 kecuali 1 sampel kelompok perlakuan P-2 (pemberian topikal) yang menda-
pat skor 2. Pada hari ke-4 hampir seluruh kelompok perlakuan mendapat skor 2 kecuali 1 sampel dari kelompok P-2 (pemberian topikal) mendapat skor 1, sedangkan seluruh kelompok kontrol (negatif dan positif) mendapat skor 1. Pada hari ke-7, semua sampel pada kelompok P-1 (pemberian sistemik) dan kelompok K+, telah men-
capai skor tertinggi (skor 3) dari pro-
ses penyembuhan luka dibandingkan kelompok P-2 (pemberian topikal) dan kelompok K- yang hanya 1 sampel saja yang menunjukkan skor 3.

Berdasarkan hasil uji Kruskal Wallis, pada hari ke-4 terdapat per-
bedaan bermakna pada kelompok P-1 (pemberian sistemik) dibandingkan
 dengan kelompok kontrol (negatif dan positif) dengan mean rank = 14>5,33. Demikian pula dengan kelompok P-2 (pemberian topikal) apabila diban-
dingkan dengan kelompok kontrol (mean rank = 9,33 > 5,33). Hal ini
menunjukkan bahwa Lactobacillus casei strain Shirota dapat bekerja
secara sistemik maupun topikal sehinga dapat mempercepat proses pe-
yembuhan luka.

Hasil penelitian ini mendukung banyak teori yang telah dikemuka-
kan oleh beberapa peneliti mengenai manfaat probiotik melalui interaksi
spesifik bakteri probiotik terhadap sel epitel mukosa usus bahwa probiotik
merupakan kunci utama dari respon
imun dan radang seperti menstimu-
lasi pembentukan sitokin di samping
kerampuannya untuk menginduksi
pembentukan substansi antibakteri
oleh sel epitel usus halus, menguat-
kan integritas barier epitel dan mampu
mengalahkan bakteri patogen untuk
memasuki tempat perlekatan mereka.

mum demikan, mekanisme molekular
interaksi probiotik dengan sel epitel
masih sedikit diketahui.

Mac Donald (2003) 
menyata-
kan bahwa slgA merupakan garis
pertahanan pertama pada mukosa
dengan mencegah adhesi dari mi-
Kroorganisme. slgA mewakili immu-
noglobulin urutan kedua terbanyak
dalam serum manusia dan tersebar
luas di dalam saliva dalam bentuk dia-
meteriknya (IgA) yang lebih baik dalam
menahan proteolisis dalam lingku-
ngan seperti rongga mulut. slgA yang
terdapat di saliva merupakan indi-
kator yang sangat baik untuk status
imun mukosa mulut. Dengan me-
ningkatnya slgA, Lactobacillus casei
strain Shirota dapat memproteksi mu-
kosa mulut yang mengalami stomatitis
aphtha termasuk daya proteksi ter-
hadap bakteri serta lebih cepat dire-
sorbsi dan bekerja pada pembuluh
darah lokal sehingga dapat memper-
cepat penyembuhan dari stomatitis
aphtha. Hal ini alih yang menjelaskan
mengapa efek dari pemberian minu-
man probiotik secara topikal pada fase
awal (hari ke-2) ternyata lebih efektif.
Menurut Saulnier, (2006)2, Lactoba-
cillus casei strain Shirota menstimu-
lasi pembentukan sitokin seperti IL-10
yang berperan sebagai anti inflamasi
pada sistem imun. IL-10 dapat meng-
hambat pembentukan IL-1, IL-6, dan
TNFα dengan meningkatkan degra-
dasi sitokin mRNA. IL-6 adalah sitokin
pro inflamasi yang merupakan tanda
adanya lesi pada mulut. Faktor stress
pun dapat meningkatkan jumlah IL-
6. Efek stimulasi pembentukan IL-10
akan menghambat pembentukan IL-6
sehingga dapat mempercepat proses
nenyembuhan lesi mukosa mulut.
Dengan demikan, dalam penelitian
ini terbukti bahwa Lactobacillus ca-
sei strain Shirota yang terkandung
dalam minuman probiotik mempunyai
efek pada sistem imun. Hasil penel-

tian ini mendukung pernyataan para peneliti sebelumnya yang menge- mukakan bahwa *Lactobacillus casei strain* Shirotia yang terkandung dalam minuman probiotik akan dibawa ke sel M pada *Peyer's patches* dalam usus dan dicerna sehingga dapat me- ningkatkan fungsi limfosit (proliferasi, sekresi sitokin, dan sitotoksisitas sel); pertahanan sel (fagositosis, produksi zat-zat oksidatif, sekresi enzim-enzim lisosom); fungsi alami sitosidal dari makrofag dan sel pembunuh alami (natural killer), serta respon antibodi (pembentukan immunoglobulin dan respon spesifik terhadap antigen).\(^1\)\(^2\)

Fungsi perlindungan mukosa usus hanya dapat tercapai bila respon imun yang dilakukan oleh sel-sel system imun pada folikular limfoid (*Peyer's patches*) dan limfosit yang tersebar dalam lamina propria berlangsung baik. Semua faktor inilah yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka mukosa mulut yang dalam pe- nelitian ini di tinjau berdasarkan per- bandingan jumlah serat kolagen dan sel-sel radang. Hasil penelitian ini juga menyatakan bahwa pemberian secara sistemik lebih efektif pada fase lanjut (hari ke-7) karena *Lactobacillus casei strain* Shirotia dapat meningkatkan sistem imun melalui *Peyer's patches* dalam usus yang tentunya membutuhkan waktu lebih lama untuk meredakan efek inflamasi dibanding- kan dengan kontak langsung dengan permukaan lesi pada pemberian minum probiotik secara topikal.

**Kesimpulan**

Pemberian minuman probiotik yang mengandung *Lactobacillus casei strain* Shirotia secara sistemik mampu mempercepat penyembuhan luka mukosa mulut. Pemberian minuman probiotik secara sistemik lebih efektif pada fase lanjut dari proses penyembuhan (hari ke-7) sedangkan pada fase awal (hari ke-4) pemberian topikal terbukti lebih efektif.

**DAFTAR PUSTAKA**