

**PENGARUH MINUMAN PROBIOTIK
MENGANDUNG *Lactobacillus casei*
Shirota 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* Shirota 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 influencing immune system that can decrease inflammation. *Lactobacillus casei* Shirota 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* Shirota 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 treatment groups (*p value* = 0.001 < 0.05). On day 2, there was not statistically significant difference (*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 probiotic drink contains *Lactobacillus casei* Shirota 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* Shirota strain, healing of oral mucosa lesion.

ABSTRAK

Pengaruh Minuman Probiotik Mengandung *Lactobacillus Casei* Shirota Strain Terhadap Penyembuhan Lesi Mukosa Mulut (Kajian pada tikus *Sprague dawleys*).

Minuman probiotik yang mengandung mikroorganisme hidup berperan penting bagi kesehatan dengan mempengaruhi sistem imun sehingga dapat mengurangi peradangan. *Lactobacillus casei* mempengaruhi sistem imun melalui mekanisme selular dan humoral. Tujuan 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 radom 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* shirota 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 tu-

buh 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 manusia; berkoloni dalam saluran pencernaan manusia; melakukan perlawanan terhadap

¹ **Bagian Patologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti,** (Prof. Janti Sudiono.drg.,MSDc).

² Gabriella Nasser

³ Angelina

⁴ Okkinardo Arief

Correspondence to :

Oral Phatology Department
Faculty of Dentistry,
University Trisakti,
Jl. Kyai Tapa, Grogol,
Jakarta 11440,

[e-mail: jantish@hotmail.com](mailto:jantish@hotmail.com)

(Prof. Janti Sudiono.drg., MDSc).

bakteri patogen.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.^{8,2} Probiotik banyak disediakan dalam sumber alamnya 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 dibubuhi 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 kerusakan pembuluh darah akan menyebabkan keluarnya platelet yang berfungsi sebagai hemostasis. Platelet akan menutupi 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 granulasi. Kemudian luka terisi fibroblast dan luka pun menutup. Fibroblas mensintesis kolagen yang merupakan matrik penting dalam proses regenerasi luka, serta metabolisme dan proses pemeliharaan jaringan¹¹

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 dipecahkan. Pada tahapan ini, sel 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 mukosa 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 H₂O₂ 3% menggunakan *cotton bud* selama 3 menit sebanyak 2 kali untuk menghasilkan suatu ulkus seperti yang terjadi pada stomatitis aphosa. 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+) diberi-

kan asam hialuronat (*alloclair*) 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 lebih sedikit dari serat kolagen (Gambar 5, 6)

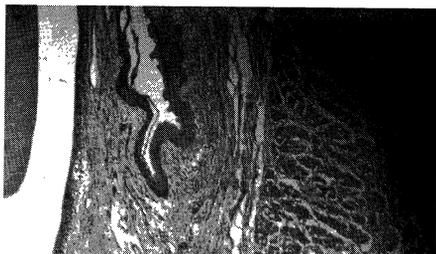
HASIL

Pemeriksaan histopatologi dari sediaan 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.

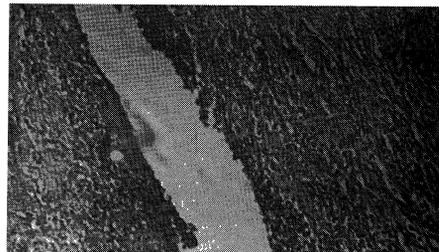
Tabel: 1. Distribusi skor hasil pemeriksaan histopatologi berdasarkan perbandingan jumlah serat kolagen dengan sel radang.

Hari	Nomor sampel	Skor			
		Kelompok K- (kontrol negatif)	Kelompok P-1 (sistemik)	Kelompok P-2 (topikal)	Kelompok K+ (kontrol positif)
2	1	1	1	1	1
	2	1	1	2	1
	3	1	1	1	1
4	1	1	2	2	1
	2	1	2	1	1
	3	1	2	2	1
7	1	3	3	3	3
	2	2	3	2	3
	3	2	3	2	3

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



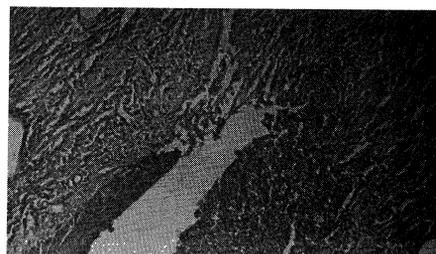
Gambar: 1.
Mukosa labial normal.
Pewarnaan HE. Pembesaran 10x10



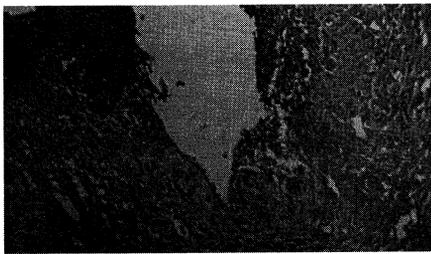
Gambar: 2.
Skor 1: Sel radang lebih banyak dibandingkan dengan serat kolagen.
Pewarnaan HE. Pembesaran 40 x10



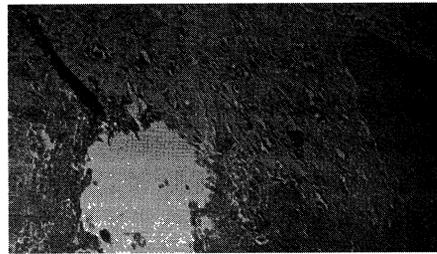
Gambar: 3.
Skor 2: Sel radang seimbang dengan serat kolagen.
Pewarnaan HE. Pembesaran 40 x10



Gambar: 4.
Skor 2: Sel radang seimbang dengan serat kolagen.
Pewarnaan Von Gieson. Pembesaran 40 x10



Gambar 5.
Skor 3: Sel radang lebih sedikit
daripada serat kolagen.
Pewarnaan HE. Pembesaran 40x10



Gambar 6.
Skor 3: Sel radang lebih sedikit dari
pada serat kolagen.
Pewarnaan Von Gieson. Pembesaran
40 x10

Tabel: 2. Distribusi Mean Rank (DMR)

Kelompok	n	Mean Rank
hari ke-2 kelompok K-	3	9.5
hari ke-2 kelompok P-1	3	9.5
hari ke-2 kelompok P-2	3	14.17
hari ke-2 kelompok K+	3	9.5
hari ke-4 kelompok K-	3	9.5
hari ke-4 kelompok P-1	3	23.5
hari ke-4 kelompok P-2	3	18.83
hari ke-4 kelompok K+	3	9.5
hari ke-7 kelompok K-	3	26.5
hari ke-7 kelompok P-1	3	32.5
hari ke-7 kelompok P-2	3	26.5
hari ke-7 kelompok IV	3	32.5
Total	36	

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 daripada *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 mendapat 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 mencapai skor tertinggi (skor 3) dari proses 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 perbedaan 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 dibandingkan dengan kelompok kontrol ($mean\ rank = 9,33 > 5,33$). Hal ini menunjukkan bahwa *Lactobacillus casei strain Shirota* dapat bekerja secara sistemik maupun topikal sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka.

Hasil penelitian ini mendukung banyak teori yang telah dikemukakan 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 menstimulasi pembentukan sitokin di samping kemampuannya untuk menginduksi pembentukan substansi antibakteri oleh sel epitel usus halus, menguatkan integritas barrier epitel dan mampu mengalahkan bakteri patogen untuk memasuki tempat perlekatannya. Na-

mun demikian, mekanisme molekular interaksi probiotik dengan sel epitel masih sedikit diketahui.

Mac Donald (2003)¹³, menyatakan bahwa sIgA merupakan garis pertahanan pertama pada mukosa dengan mencegah adhesi dari mikroorganisme. sIgA mewakili immunoglobulin urutan kedua terbanyak dalam serum manusia dan tersebar luas di dalam saliva dalam bentuk diametriknya (IgA) yang lebih baik dalam menahan proteolisis dalam lingkungan seperti rongga mulut. sIgA yang terdapat di saliva merupakan indikator yang sangat baik untuk status imun mukosa mulut. Dengan meningkatnya sIgA, *Lactobacillus casei strain Shirota* dapat memproteksi mukosa mulut yang mengalami *stomatitis aphosa* termasuk daya proteksi terhadap bakteri serta lebih cepat diresorpsi dan bekerja pada pembuluh darah lokal sehingga dapat mempercepat penyembuhan dari *stomatitis aphosa*. Hal inilah yang menjelaskan mengapa efek dari pemberian minuman probiotik secara topikal pada fase awal (hari ke-2) ternyata lebih efektif. Menurut Saulnier, (2006)², *Lactobacillus casei strain Shirota* menstimulasi pembentukan sitokin seperti IL-10 yang berperan sebagai anti inflamasi pada sistem imun. IL-10 dapat menghambat pembentukan IL-1, IL-6, dan TNF α dengan meningkatkan degradasi 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 penyembuhan lesi mukosa mulut. Dengan demikian, dalam penelitian ini terbukti bahwa *Lactobacillus casei strain Shirota* yang terkandung dalam minuman probiotik mempunyai efek pada sistem imun. Hasil peneliti-

tian ini mendukung pernyataan para peneliti sebelumnya yang mengemukakan bahwa *Lactobacillus casei strain* Shirota yang terkandung dalam minuman probiotik akan dibawa ke sel M pada *Peyer's patches* dalam usus dan dicerna sehingga dapat meningkatkan fungsi limfosit (proliferasi, sekresi sitokin, dan sitotoksitas 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).^{14,2} 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 penelitian 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* Shirota dapat meningkatkan sistem imun melalui *Peyer's patches* dalam usus yang tentunya membutuhkan waktu lebih lama untuk meredakan efek inflamasi dibandingkan dengan kontak langsung dengan permukaan lesi pada pemberian minum probiotik secara topikal.

Kesimpulan

Pemberian minuman probiotik yang mengandung *Lactobacillus casei strain* Shirota secara sistemik maupun topikal dapat mempercepat penyembuhan lesi pada 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

1. Parra, MD., Martinez de Morentin, BE., Cobo, JM., Mateos. A., Martinez, JA. Daily ingestion of fermented milk containing *Lactobacillus casei* DN114001 improves innate-defence capacity in healthy middle-aged people. *Journal of physiology and Biochemistry* 2004; 60: 85-91.
2. Saulnier N, Zocco MA, Di Caro S, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Probiotics And Small Bowel Mucosa: Molecular Aspects of Their Interactions. *Genes & Nutrition* 2006; Vol. 1, No. 2, pp. 107-116,
3. Schrezenmeir J, Heller K, Mccue M, Lliamas C, Lam W, Burow H, et.al. Benefit Oral Supplementation with or without Synbiotics in Young Children with Acute Bacterial Infections. *Clin Pediatr* 2004; 43:239-49.
4. Surono, I.S. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Jakarta: Tri Cipta Karya; 2004.
5. Nuraida L. *The Latest Update on Probiotic*. *Food Review* 2008; III(6): 16–20.
6. Takeda K dan Okumura K. 2007. Effects of a fermented milk drink containing *L.casei* strain shirota on the humans NK-cell activity; *Am.Society for Nutrition*.
7. Mach T. Clinical Usefulness of Probiotics In Inflammatory Bowel Diseases. *Journal of Physiology and Pharmacology* : an Official Journal of the Polish Physiological Society 57 2006; 9: 23–33.
8. Schrezenmeir J, Heller K, Mccue M, Lliamas C, Lam W, Burow H, et.al. Benefit Oral Supplementation with or without Synbiotics in Young Children with Acute Bacterial Infections. *Clin Pediatr* 2004; 43:239-49.
9. Kalliomaki, M, Salminen, S, Poussa, T, Arvilommi, H, Isolauri, E. Probiotics and prevention of atopic disease: 4 year follow-up of a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 1869-71.
10. Viljanen, M, Savilahti, E, Haahtela, T, Juntunen-Backman, K, Korpela, R, Poussa, T, Tuure, T, Kuitunen, M. Probiotics in the treatment of atopic eczema/dermatitis syndrome in infants: a double-blind placebo-controlled trial. *Allergy* 2005; 60: 494-500.

11. Mercandetti M., Cohen A. *Wound healing, healing and repair*. E.Medicine. October 7. 2002. <http://www.eMedicine.com.Inc>.
12. Federer WT. 2005. *Experimental Design: Theory and application* in: Hanafiah KA Ed. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*. Jakarta, Raja Grafindo Persada.
13. MacDonald, T.T. The mucosal immune system. *Parasite Immunol* 2003; 25: 235-246.