

## Efek Penggunaan Probiotik Topikal Terhadap Ekspresi MMP-13 dan Kolagen III pada Lapisan Dermis Tikus yang Dipapar Sinar Ultraviolet-B

Vita M. Tawaran<sup>1,4</sup>, Anissa<sup>2</sup>, Endang Sutedja<sup>3</sup>, Ronny Lesmana<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Divisi Fisiologi, Departemen Anatomi, Biologi, dan Sel, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia, <sup>2</sup>Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia, <sup>3</sup>Department Dermatologi dan Venereologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia, <sup>4</sup>Pusat Studi Kardiovaskular, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia

### Abstrak

Proses penuaan kulit terjadi karena kombinasi penurunan kapasitas proliferasi sel-sel kulit, berkurangnya sintesis matriks dermis, dan peningkatan ekspresi enzim yang mendegradasi matriks kolagen. Penelitian ini merupakan eksperimen laboratorium, menggunakan 24 ekor tikus jantan galur Sprague-Dawley sebagai objek penelitian. Pada kelompok perakuan, kulit dorsal kedua kelompok dicukur, kemudian diberikan paparan sinar UVB seminggu tiga kali selama 4 minggu dengan dosis total penyinaran 840 mJ/cm<sup>2</sup>. Kulit kelompok perlakuan diolesi krim *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 yang tidak bereplikasi, sehari 2 kali dengan komposisi aplikasi topikal koloni 247,27x10<sup>7</sup>, sedangkan kelompok kontrol tidak diolesi apapun. Hasil penelitian diperoleh, baik intensitas, distribusi, maupun histoskor MMP-13 antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol tidak menunjukkan ada perbedaan yang bermakna (p>0,05). Intensitas kolagen III baik pada kelompok perlakuan maupun kontrol semua mempunyai derajat kuat, sedangkan distribusi kepadatan kolagennya paling rendah 20–50% dan tertingginya di atas 80%. Perbandingan distribusi kepadatan kolagen III secara statistik sangat bermakna (p<0,01). Pemberian krim topikal *L. plantarum* FNCC 0020 meningkatkan ekspresi distribusi kepadatan kolagen III namun tidak menurunkan ekspresi MMP-13.

**Kata kunci:** *Lactobacillus plantarum*, kolagen, (matrix metalloproteinases) MMP13

## Effect of Topical Probiotic on MMP-13 and Collagen III Expression in The Dermis Layer of Male Rats Irradiated with Ultraviolet-B

### Abstract

Nowadays, there is a big interest in the use of topical probiotic preparations for skin health. One of the probiotics therapeutic benefits is used as anti-aging. During aging, there is stimulation of activator protein-1 (AP-1) which is a transcription factor that inhibits the production of collagen and AP-1 supports the breakdown of collagen by enzymes called matrix metalloproteinases (MMPs). As administration of oral *Lactobacillus plantarum* could inhibit skin aging by lowering the activity of MMP, so the collagen degradation can be derived so probably topical use of *Lactobacillus plantarum* may give more prominent effects. We used 24 male rats Sprague-Dawley strain as research objects. This study was divided into two groups, the treatment and control groups. The shaved dorsal skin of rats were irradiated with UVB three times a week for 4 weeks with total irradiation dose of 840 mJ/cm<sup>2</sup>. Skin cream, containing 247.27x10<sup>7</sup> CFU non-replicating *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020, was smeared on the treatment group, two times daily, whereas the control group did not receive any treatment. Skin biopsies were done at the end of the study for examination of MMP-13 and collagen III expressions. Intensity, distribution, and histoscore of MMP-13 between the treatment and the control group showed no significant difference (p>0.05). The treatment group showed a significant different in the intensity of collagen III with the density distribution of 20–50% and the highest density was 80% (p<0.01). Administration of topical cream *L. plantarum* FNCC 0020 increased the expression of collagen III density distribution, but not the MMP-13 expression.

**Keywords:** Collagen, *Lactobacillus plantarum*, (matrix metalloproteinases) MMP13

**Korespondensi:** Ronny Lesmana, dr., M.Kes., PhD., AIFO., Divisi Fisiologi, Departemen Anatomi, Biologi, dan Sel, Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, email: cloencool@gmail.com

Naskah diterima: 13 November 2015, Diterima untuk diterbitkan: 1 Mei 2016, Diterbitkan: 1 Juni 2016

## Pendahuluan

Seiring dengan bertambahnya usia, kulit mengalami banyak perubahan morfologis dan fisiologik, sehingga hampir menjadi dambaan bagi setiap individu, agar proses penuaan tersebut dapat diperlambat. Penuaan kulit diakibatkan oleh dua proses, yaitu proses intrinsik dan ekstrinsik. Penuaan intrinsik terjadi karena berlalunya waktu, sedangkan penuaan ekstrinsik terjadi karena faktor lingkungan, terutama diakibatkan radiasi ultraviolet (UV).<sup>1,2</sup>

Terdapat berbagai macam strategi untuk mengatasi masalah dalam penuaan kulit. Selain pendekatan kosmetik, intervensi nutrisi tidak kalah pentingnya.<sup>3</sup> Diet antioksidan diketahui dapat mencegah kerusakan kulit yang diinduksi sinar UV, dan akhir-akhir ini terjadi peningkatan ketertarikan melalui pendekatan nutrisi, dengan menggunakan organisme hidup, yaitu probiotik.<sup>4</sup> *Food and Agriculture Organization of the United Nations-World Health Organization* (FAO-WHO) yang disetujui oleh *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics* (ISAPP) menyatakan bahwa probiotik adalah mikroorganisme hidup, bila diberikan dalam jumlah adekuat memberikan keuntungan kesehatan terhadap inangnya.<sup>5</sup>

Umumnya probiotik yang terdapat dalam bentuk makanan ataupun suplemen makanan bertujuan untuk mengoptimalkan fungsi usus. Mikroorganisme yang paling banyak digunakan sebagai probiotik adalah galur bakteri asam laktat/*lactic acid bacteria* (LAB). Perhatian khusus ditujukan pada spesies spesifik LAB, yaitu *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* yang merupakan bagian dari mikrobiota intestinal. Meskipun saluran cerna merupakan target organ utama probiotik, semakin jelas bahwa organ kulit yang tidak berkaitan dengan mikrobiota usus dapat juga memperoleh keuntungannya.<sup>4</sup> Mekanisme kerja dari *L. plantarum* melalui keterlibatan

perikatan EnoA1 *alfa-enolase* pada *type I collagen* (CnI) *binding* dan juga melalui memodulasi sistem imun di dalam usus, yang secara langsung maupun tidak langsung mempengaruhi imun sistemik, termasuk imun di kulit.<sup>6,7</sup>

Hal ini sangat menarik, terbukti dengan adanya peningkatan penggunaan probiotik topikal oleh masyarakat secara significant yang ditandai dengan mulai beredar produk probiotik topikal di pasaran. Selain itu sejalan dengan telah ditemukan efek positif probiotik topikal untuk terapi dan pencegahan masalah yang timbul pada kulit, seperti penuaan, jerawat, rosacea, infeksi bakteri dan jamur, psoriasis, dan dermatitis.<sup>8</sup>

Keuntungan efek dari probiotik dapat diakibatkan oleh bakteri sendiri ataupun zat/metabolit yang dihasilkannya. *Barrier* kulit mencegah komponen mikroba dan mikroba sendiri untuk masuk ke lapisan yang lebih dalam. Namun, komponen eksternal, mikroba, dan/atau metabolit mikroba kemungkinan memiliki efek di dalam fungsi *barrier* kulit.<sup>3</sup> Viabilitas strain probiotik dianggap penting dan aktivitas metaboliknya penting dalam ekspresi aktivitas anti patogen. Terdapat bukti bahwa komponen bakteri seperti DNA (beberapa motif CpG) atau fragmen dinding sel bakteri mati dapat mendatangkan respon imun.<sup>9</sup> Beberapa ilmuwan menyatakan bahwa, beberapa preparasi bakteri semi aktif dan beberapa bakteri yang tidak bereplikasi masih memiliki aktifitas metabolik,<sup>10</sup> sehingga bakteri semi-aktif dan yang tidak bereplikasi merupakan preparat topikal potensial yang dibuat untuk kesehatan dan kecantikan kulit.

Namun, belum terdapat data dan laporan mengenai mekanisme pasti kerja probiotik topikal dalam menjaga dan meningkatkan kecantikan kulit. Besar kemungkinan bahwa probiotik topikal memengaruhi kerja matriks metalloproteinase (MMP) yang merupakan metalloproteinase. Matriks metalloproteinase adalah famili besar enzim degradatif yang

berperan penting di dalam degradasi matriks kulit.<sup>11,12</sup> MMP berperan penting dalam menjaga fungsi kolagen, dimana kerja MMP sendiri dipengaruhi oleh *activator protein (AP)-1*.

Pemberian probiotik topikal, diduga dapat menghambat penuaan kulit, dengan cara menurunkan aktivitas MMP sehingga degradasi kolagen dapat diturunkan. Berdasarkan alasan tersebut, kami ingin mengetahui apakah terdapat efek dari pemberian krim probiotik topikal, *strain L. plantarum FNCC 0020* terhadap ekspresi MMP-13 dan kolagen III, sehingga diharapkan dapat menjadi alternatif terapi untuk memperlambat proses penuaan kulit.

## Metode

### Hewan coba

Hewan coba adalah 24 ekor tikus jantan (*Rattus norvegicus* galur Sprague-Dawley) yang berusia 6–8 minggu dengan berat badan rata-rata 150–250 gram/ekor, diperoleh dari Pusat Antar Universitas (PAU) ITB, Bandung. Perlakuan pada hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Unpad periode Mei–Juni 2015.

### Jumlah sampel dan kelompok perlakuan

Jumlah sampel minimal dihitung berdasarkan rumus Federer ( $r = \text{jumlah sampel}$ ;  $t = \text{jumlah perlakuan}$ ) atau menggunakan *Mead's Formula* untuk studi eksperimen menggunakan binatang yaitu sebanyak 22 ekor. Karena ada 2 buah perlakuan, maka untuk setiap perlakuan diperlukan  $n=11$ . Jadi jumlah sampel minimal untuk setiap kelompok adalah 11 ekor hewan coba.

### Kriteria inklusi dan eksklusi hewan coba

Kriteria inklusinya adalah keturunan murni Sprague-Dawley, umur 6–8 minggu, berat badan 150–250 gram, tidak ada abnormalitas anatomis yang tampak. Kriteria eksklusi

adalah sakit selama masa adaptasi dalam 7 hari, infeksi selama perlakuan berlangsung, dan mati selama perlakuan berlangsung. Prosedur penelitian adalah sebagai berikut: sebanyak 24 ekor tikus jantan Sprague-Dawley dibagi menjadi dua kelompok secara random, yaitu kelompok perlakuan dan kontrol. Sebelum dikelompokkan, pertama-tama tikus ditimbang berat badannya dahulu. Hewan coba diberikan penyesuaian terlebih dahulu agar bisa beradaptasi dalam lingkungan Laboratorium Farmakologi FK-UNPAD selama 1 minggu. Selama dalam masa adaptasi tersebut, hewan coba diberikan makanan dan minuman secukupnya, diletakkan dalam kandang (1 kandang terdapat 6 tikus). Kemudian dilakukan pencukuran pada punggung tikus (area yang mendapat penyinaran). Kelompok perlakuan diberikan paparan sinar UVB dan diolesi krim probiotik *L. plantarum FNCC 0020*. Kelompok kontrol hanya diberikan pajanan sinar UVB dan tidak diberikan krim. Penyinaran menggunakan alat sinar UVB merek Kernel tipe KN-4003, dengan dosis total penyinaran 840 mJ/cm<sup>2</sup>, dengan perincian: 50 mJ/cm<sup>2</sup> pada minggu pertama, 70 mJ/cm<sup>2</sup> pada minggu kedua, dan 80 mJ/cm<sup>2</sup> pada minggu ke-3 dan ke-4. Penyinaran diberikan 3 kali seminggu selama 4 minggu, sehingga dosis totalnya mencapai 840 mJ/cm<sup>2</sup>. Jarak sumber UVB dengan punggung tikus adalah  $\pm 12$  cm.

Selanjutnya krim probiotik *L. plantarum FNCC 0020* diaplikasikan 2 kali sehari, yaitu 20 menit sebelum disinari (untuk memberikan waktu absorpsi bahan topikal ke dalam kulit) dan 4 jam setelah penyinaran (terbentuknya ROS mulai 4 jam setelah paparan). Aplikasi bahan topikal tetap dilakukan pada hari tanpa penyinaran. Tikus dibiarkan terlebih dahulu selama 24 jam setelah penyinaran berakhir untuk menyingkirkan pengaruh efek penyinaran akut. Untuk mengevaluasi efek krim *L. plantarum FNCC 0020* pada ekspresi MMP-13 dan kolagen, tikus di-*euthanasia*

**Tabel 1 Langkah Paparan Sinar UVB<sup>74</sup>**

Jadwal penyinaran	Dosis sinar UVB	Lama penyinaran
Minggu I (Senin, Rabu, Jumat)	50 mJ/cm <sup>2</sup>	50 detik
Minggu II (Senin, Rabu, Jumat)	70 mJ/cm <sup>2</sup>	70 detik
Minggu III (Senin, Rabu, Jumat)	80 mJ/cm <sup>2</sup>	80 detik
Minggu IV (Senin, Rabu, Jumat)	80 mJ/cm <sup>2</sup>	80 detik

24 jam setelah pemberian topical krim probiotik terakhir. Biopsi kulit diperoleh dari punggung tikus, *perpendicular* terhadap aksis memanjang tubuh.

Krim topikal *L. plantarum* FNCC 0020 Probiotik *lysate*, 100 ml yang mengandung 10-8 CFU/ml *L. Plantarum*. Krim topikal *L. plantarum* FNCC 0020 diperoleh dari campuran biakan *L. plantarum* FNCC 0020 dengan bahan-bahan vehikulum. Bakteri *L. plantarum* FNCC 0020 diperoleh dari Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada, pengembangbiakkannya dilakukan di Laboratorium Riset dan Pengujian Fakultas Peternakan UNPAD, sedangkan pembuatan krimnya dilakukan di Laboratorium Farmasetika dan Teknologi Fakultas Farmasi UNPAD.

Pengembangbiakkan *L. plantarum* FNCC0020  
Pengembangbiakkan *L. plantarum* FNCC 0020 dilakukan di Laboratorium Riset dan Pengujian Fakultas Peternakan UNPAD. Prosedur: ampul berisi serbuk biakkan *L. plantarum* FNCC 0020 dibuka, ditambahkan

5 tetes pepton 0,1%, dituangkan ke dalam tabung reaksi yang berisi MRSB sebanyak 100 ml, kemudian diinkubasi selama 2 hari dengan suhu 37 °C. dituangkan 100 ml suspensi ke dalam 400 ml MRSB, diinkubasi selama 1 hari dengan suhu 37 °C, setelah diinkubasi, suspensi dikirim ke Laboratorium Farmasetika dan Teknologi Farmasi UNPAD untuk dibuat sediaan krim, dilakukan penghitungan *Optical Density* (OD) dan *Total Plate Count* (TPC), hasil TPC adalah 247,27x10<sup>7</sup> CFU, pada produk paten teregistrasi, disebutkan komposisi aplikasi topikal koloni probiotik 107-109 CFU.<sup>13</sup>

Pembuatan krim *L. plantarum* FNCC 0020  
Pembuatan krim *L. plantarum* FNCC 0020 dilakukan di Laboratorium Farmasetika dan Teknologi Fakultas Farmasi UNPAD.

Prosedur produksi:  
Biakkan kemudian disonifikasi selama 1 jam, dihomogenkan, diformulasikan ke dalam basis viskolam. Viskolam ditimbang, kemudian ditambahkan air sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan *magnetic stirrer* sampai

**Tabel 2 Formulasi Sediaan Krim *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020**

Komposisi	F% (b/b)
<i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 0020	50
Viscolam AT 100	5
Tri etanol amin (TEA)	1
Aquadest add	100

**Tabel 3 Perbandingan Ekspresi MMP-13 antara Kedua Kelompok**

Ekspresi MMP13	Kelompok		Nilai p
	I (n=12)	II (n=12)	
a. Intensitas:			
- Negatif	0	0	0,371*
- Lemah	0	0	
- Sedang	2	5	
- Kuat	10	7	
b. Distribusi:			
- 0%	0	0	0,408**
- <20%	0	0	
- 20-50%	0	0	
- 50-80%	6	4	
- >80%	6	8	
c. Histoskor:			
Median	10,5	9	0,551***
Rentang	6-12	6-12	

Keterangan: Kelompok I: pemberian krim topikal *L. plantarum FNCC 0020*; Kelompok II: kontrol

\*diuji berdasarkan Uji Eksak-Fisher, \*\*Uji Chi-Kuadrat, \*\*\*Uji Mann-Whitney

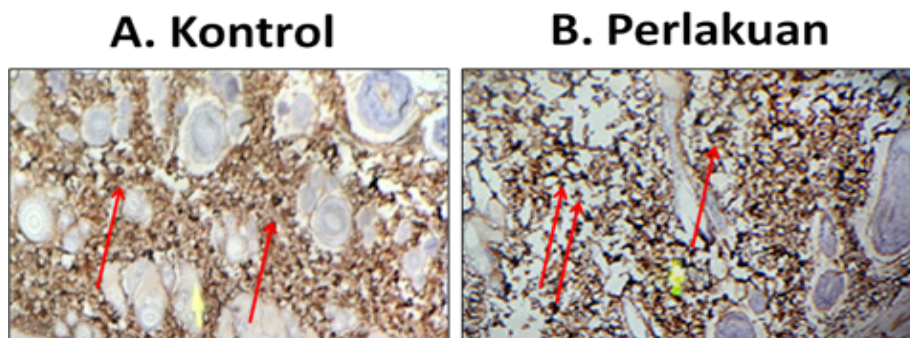
terbentuk basis krim. Tambahkan TEA dalam basis. *L. plantarum FNCC 0020* ditambahkan sambil diaduk sampai tercampur merata.

Pemeriksaan ekspresi MMP-13 dan kolagen III (*immunohistochemistry*)

Antibodi yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Santa Cruz (USA). Penggunaan antibodi ini sesuai dengan protokol yang diberikan oleh perusahaan. Perhitungan histoskor dilakukan dengan menggunakan mikroskop olympus jenis BX 41 yang

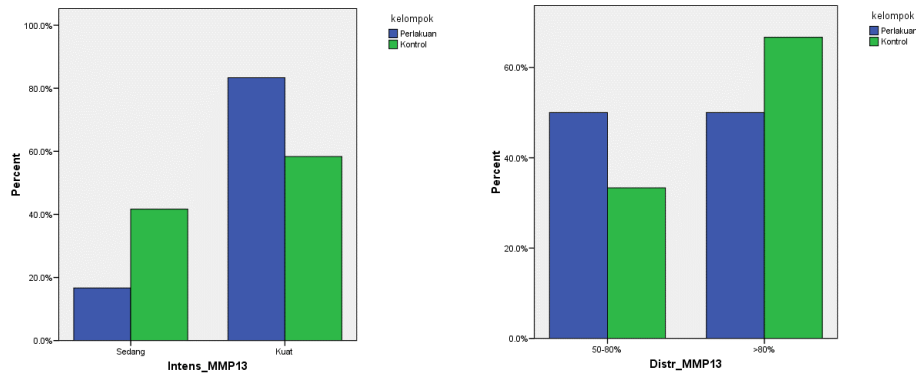
dilengkapi dengan kamera digital DP-70 dengan pembesaran 400x. Masing-masing sediaan diteliti sebanyak 5 lapang pandang dan nilai dari setiap lapang pandang yang akan dihitung sel limfosit yang tampak ekspresi coklat pada sitoplasma dan membran limfosit sebagai nilai histoskor untuk memperoleh ekspresi sel MMP-13 secara kuantitas.

Rancangan analisis dan statistik Untuk membandingkan ekspresi MMP-13 antara kedua kelompok digunakan uji



**Gambar 1 Perbandingan Ekspresi MMP-13 antara Kedua Kelompok**





**Gambar 2 Grafik Perbandingan Intensitas dan Distribusi MMP-13 antara Kedua Kelompok**

Kruskal-Wallis, jika hasilnya bermakna maka akan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Sedangkan untuk membandingkan ekspresi kolagen III pada kedua kelompok digunakan uji *Chi-Square*. Kemaknaan hasil uji ditentukan berdasarkan nilai  $p < 0,05$ .

**Hasil**

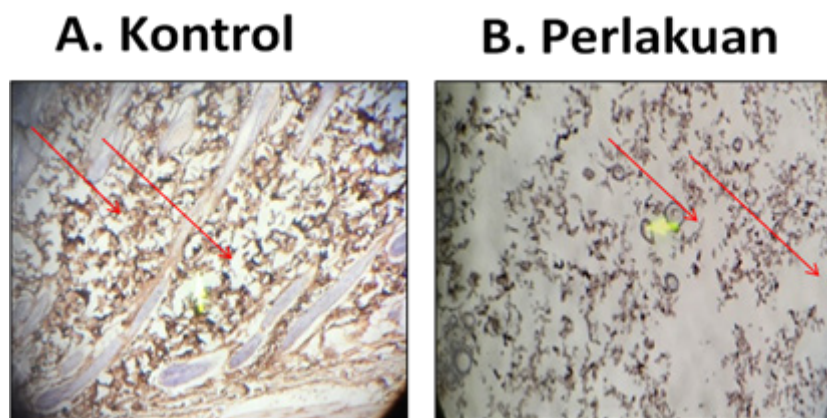
Penelitian tentang pengaruh pemberian krim probiotik *L. plantarum FNCC 0020* terhadap ekspresi MMP-13 dan kolagen III telah dilakukan masing-masing terhadap 12

tikus jantan Sprague-Dawley yang sesuai dengan kriteria inklusi. Pengamatan ekspresi MMP-13 dan kolagen III dilakukan setelah pemberian paparan sinar UVB selama 4 minggu pada punggung tikus. Pengukuran ekspresi MMP-13 dan kolagen III dilakukan dengan mengukur intensitas dan distribusi, kemudian dihitung histoskornya. Hasil penelitian selengkapnya disajikan berikut ini. Dari Tabel 3 di atas tampak baik intensitas, distribusi, maupun histoskor MMP-13 antara kelompok perlakuan dan kontrol tidak menunjukkan ada perbedaan yang bermakna

**Tabel 4 Perbandingan Ekspresi Kolagen III antara Kedua Kelompok**

Ekspresi kolagen III	Kelompok		Nilai p
	I (n=12)	II (n=12)	
a. Intensitas:			
- Negatif	0	0	-
- Lemah	0	0	
- Sedang	0	0	
- Kuat	12	12	
b. Distribusi kepadatan:			
- 0%	0	0	0,007*
- <20%	0	0	
- 20-50%	2	3	
- 50-80%	5	7	
- >80%	5	2	
c. Histoskor:			
Median	9	7,5	0,001**
Rentang	6-12	3-12	

Keterangan: \*Uji Chi-Kuadrat, \*\*Uji Mann-Whitney



**Gambar 3 Perbandingan Distribusi Kepadatan Kolagen III antara Kedua Kelompok**

( $p > 0,05$ ). Akan tetapi ada kecenderungan pada kelompok perlakuan histoskornya lebih tinggi.

Dari Tabel 4 tampak intensitas kolagen III baik pada kelompok perlakuan maupun kontrol semua mempunyai derajat kuat, sedangkan distribusi kepadatan kolagennya paling rendah 20–50% dan tertingginya di atas 80%. Perbandingan distribusi kepadatan kolagen III secara statistik sangat bermakna ( $p < 0,01$ ). Berdasarkan histoskor tampak pada kelompok perlakuan nilai mediannya lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok kontrol dan perbedaan ini secara statistik sangat bermakna.

### **Pembahasan**

Perbandingan ekspresi MMP-13 antara kedua kelompok

Terdapat sebanyak dua regulator penting dalam produksi kolagen, yaitu: *transforming growth factor (TGF)- $\beta$* , suatu sitokin yang mendukung produksi kolagen, dan *activator protein (AP)-1*, suatu faktor transkripsi yang menghambat produksi kolagen dan meningkatkan regulasi pemecahan kolagen dengan meningkatkan regulasi enzim yang dinamakan dengan matriks metalloproteinase (MMP). Matriks metalloproteinase adalah famili besar enzim degradatif dan penting di

dalam degradasi matriks kulit.<sup>14,15</sup> Penelitian pada bidang gigi dan mulut, memperlihatkan kapasitas VSL3 per oral untuk menurunkan kadar aktivitas MMP jaringan dalam menjaga terapi pasien dengan pouchitis.<sup>16</sup> Moorthy mengevaluasi efek *L. rhamnosus* dan *L. acidophilus* pada infiltrasi neutrofil dan peroksidasi lipid selama diare yang diinduksi *Shigella dysenteriae* pada tikus, dan menunjukkan reduksi kadar *myeloperoxidase*, *lipid peroxidation*, *alkaline phosphatase*, dan ekspresi MMP-2 dan MMP-9.<sup>17</sup>

Sinar UVB akan mencetuskan jaras sinyal selular melalui reseptor permukaan sel atau pembawa pesan sekunder, seperti ROS yang akan memfosforilasi kinase, termasuk *Jun N-terminal kinase (JNK)*, p38, dan *extracellular regulated kinases (ERKs)*. Kinase ini akan menstimulasi aktivitas AP-1. Penelitian Kim dkk menunjukkan, pemberian *Lactobacillus plantarum HY7714* pada lini sel fibroblast dermal manusia sebelum diberikan radiasi sinar ultraviolet-B (UVB) dapat menurunkan kadar MMP-1. Data dari *Western Blot* menunjukkan *L. plantarum HY7714* menghambat fosforilasi *Jun N-terminal kinase*, sehingga akan mensupresi fosforilasi dan ekspresi c-Jun yang diinduksi UVB. Sedangkan pemberian oral *L. plantarum HY7714* pada tikus sebelum

diberikan radiasi UVB sebanyak 3x per minggu selama 12 minggu pada punggung tikus dapat mengurangi jumlah, kedalaman, dan area keriput. Dosis awal radiasi UVB adalah 25 mJ/cm<sup>2</sup> (1 *minimal erythematous dose*/MED) selama minggu pertama, dosisnya kemudian dinaikkan per minggu sebanyak 1 MED (25 mJ/cm<sup>2</sup>) sampai mencapai 4 MED (100 mJ/cm<sup>2</sup>). Jarak penyinaran sumber UVB ke kulit punggung tikus adalah 12,7 cm. Data histologis menunjukkan *L. plantarum* HY7714 secara signifikan menghambat ketebalan epidermal kulit tikus yang diinduksi UVB. Data *Western Blot* dan zimografi juga menunjukkan bahwa *L. plantarum* HY7714 secara efektif menghambat ekspresi MMP-13 selain MMP-2 dan MMP-9 pada jaringan dermis.<sup>18</sup> Penelitian Hong YF dkk, menemukan LTA *L. plantarum* akan menghambat ekspresi MMP-1. Inhibisi MMP-1 pada sel yang distimulasi LTA diperantarai oleh inaktivasi ERK dan JNK. Aktivitas ikatan DNA terhadap AP-1 dan NF- $\kappa$ B berkurang dengan pemberian LTA.<sup>19,20</sup>

Dari hasil tersebut, pemberian preparat topikal *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 diduga memiliki aktivitas anti penuaan kulit, dengan cara menurunkan aktivitas MMP sehingga degradasi kolagen dapat diturunkan. Penelitian yang dilakukan Kim dkk mengenai efek protektif diet isoflavon kedelai terhadap radiasi yang diberikan kepada kulit punggung tikus selama 4 minggu menunjukkan penurunan ekspresi MMP-1.<sup>21,22</sup> Dari tabel 4 di atas tampak baik intensitas, distribusi, maupun histoskor MMP-13 antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol tidak menunjukkan ada perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ).

Pada kulit yang telah menua, terdapat peningkatan *AP-1* dibanding pada kulit orang muda. Aktivitas MMP meningkat pada kulit manusia yang menua dan berhubungan dengan peningkatan secara dramatis kadar kolagen yang terdegradasi. Sintesis prokolagen tipe

I dan III pun berkurang pada kulit manusia yang menua. Kombinasi antara peningkatan pemecahan kolagen dan penurunan sintesis kolagen yang baru, menghasilkan penurunan kadar kolagen dermis secara keseluruhan.<sup>23</sup> Penelitian Hong dkk pada fibroblast dermal manusia, yang sebelumnya distimulasi oleh isolasi LTA *L. plantarum* kemudian diberikan radiasi ultraviolet menunjukkan promosi sintesis prokolagen tipe I dan menurunkan pembentukan *Reactive Oxidative Species* (ROS). Radiasi sinar ultraviolet akan mendegradasi serat kolagen dan mengakibatkan kolaps struktur dermis, kemudian diikuti dengan akselerasi proses penuaan. Induksi kolagenase (MMP-1) oleh sinar UVB merupakan faktor penting terhadap hilangnya serat kolagen. Untuk mengevaluasi efek *L. plantarum* HY7714 terhadap kolagen atau ekspresi MMP-1 pada fibroblast dermal yang diradiasi UVB, dilakukan analisis protein menggunakan metode *Western Blot*. Hasilnya menunjukkan bahwa radiasi UVB menghambat ekspresi prokolagen pada sel Hs68 dan *L. plantarum* HY7714 secara efektif menyelamatkan ekspresi prokolagen dengan bergantung dosis.<sup>19</sup> Banyak bakteri *L. plantarum* HY7714 yang dibutuhkan tidak dihitung lebih secara tepat dan apakah terdapat efek *dose-dependent* dari penggunaan bakteri ini. Hal ini berdampak pada penentuan jumlah bakteri teroptimal dalam penggunaan topikal.

Penurunan kolagen yang merupakan komponen utama matriks ekstraseluler kulit merupakan penyebab utama *photoaging*. *L. plantarum* HY7714 meningkatkan sekresi prokolagen secara poten sampai 32% pada sel Hs68 dibanding jenis probiotik lain yang diuji.<sup>18</sup>

Kulit secara keseluruhan memiliki lingkungan yang berbeda dengan intestin, sehingga terdapat beberapa perbedaan kriteria seleksi untuk probiotik di kulit. Kriteria tersebut yaitu adhesi terhadap keratin, inhibisi adhesi patogen, dan zat antimikrobia



yang dihasilkan.<sup>12,24</sup> Dua galur ditemukan melekat dengan baik dengan keratin, yaitu *Propionibacterium freudenreichii* spp. 20271 dan *Lactobacillus rhamnosus* 5•5a.<sup>11</sup> Terdapat produk paten Amerika teregistrasi, menggunakan LAB sebagai bahan kosmetik.<sup>13</sup> *Propionic acid bacteria* (PAB) dipilih sebagai probiotik potensial karena bakteri tersebut merupakan bagian dari mikrobiota pada kulit yang normal,<sup>14</sup> namun karena PAB kutaneus ditemukan berhubungan dengan penyakit, maka penggunaannya tidak cocok digunakan sebagai probiotik.<sup>15</sup> *Dairy* PAB memiliki riwayat keamanan dalam penggunaannya dan tidak ditemukan berkaitan dengan penyakit, sehingga dinilai memiliki potensi dalam penggunaan probiotik kulit.<sup>24</sup>

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekspresi intensitas kolagen pada kedua kelompok terlihat kuat, namun terjadi peningkatan distribusi kepadatan kolagen pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal tersebut menunjukkan terdapat efek krim *L. plantarum* FNCC 0020 terhadap perbaikan ekspresi kolagen. Kepadatan kolagen yang meningkat dimungkinkan karena krim *L. plantarum* FNCC 0020 menghambat jaras penurunan *TGF-β*. Penelitian ini dilakukan hanya dalam waktu singkat (4 minggu). Sebaiknya penelitian dilakukan dalam jangka waktu yang lebih lama sehingga dapat diperoleh penilaian dosis *L. plantarum* FNCC 0020 yang bergantung waktu. Selain itu tidak dilakukan perlakuan dengan menggunakan krim plasebo serta tidak membandingkan efek pemberian dosis *L. plantarum* FNCC 0020 dengan persentase yang berbeda-beda. Pada penelitian ini juga tidak dilakukan pembuktian melalui jalur *TGF-β*.

### Simpulan

Pemberian krim probiotik topikal *L. Plantarum* FNCC 0020 tidak menurunkan

ekspresi MMP-13 pada lapisan dermis tikus jantan galur Sprague-Dawley yang dipapar sinar UVB. Pemberian krim probiotik topikal *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 meningkatkan ekspresi distribusi kepadatan kolagen III pada lapisan dermis tikus jantan galur Sprague-Dawley yang dipapar sinar UVB.

### Ucapan Terima Kasih

Kami berterima kasih untuk bantuan kepada RL melalui skema DIKTI PS-KLN tahun 2016 sehingga dapat berperan dalam proses publikasi penelitian ini.

### Pendanaan

Penelitian ini dilakukan tanpa bantuan dana dan hibah dari manapun.

### Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

### Daftar Pustaka

1. Makrantonaki E, Zouboulis CC, William J. Cunliffe Scientific Awards. Characteristics and pathomechanism of endogenously aged skin. *Dermatology*. 2007;214(4):352–60. doi: 10.1159/000100890
2. Makrantonaki E, Zouboulis CC. Pathomechanisms of endogenously aged skin. In: Farage M MK, Maibach HI, editor. *Textbook of Aging Skin*. Verlag Berlin Heidelberg: Springer; 2010. doi: 10.1007/978-3-540-89656-2\_9
3. Ouwehand AC, Tiihonen K, Lahtinen S. The potential of probiotics and prebiotics for skin health. In: Farage M MK, Maibach HI, editor. *Textbook of Aging Skin*. Verlag Berlin Heidelberg: Springer; 2010. doi: 10.1007/978-3-540-89656-2\_77

4. Cinque B, Palumbo P, La-Torre C, Melchiorre E, Corridoni D, Miconi G, et al. Probiotics in aging skin. In: Farage M, Miller KW, Maibach HI, editor. Textbook of aging skin. Berlin Heidelberg: Springer; 2010. doi: 10.1007/978-3-540-89656-2\_78
5. Reid G. How science will help shape future clinical applications of probiotics. *Clin Infect Dis*. 2008;46:S62–S6. doi: 10.1086/523340
6. Christmann BS, Abrahamsson TR, Bernstein CN, Duck LW, Mannon PJ, Berg G, Björkstén B, Jenmalm MC, Elson CO. Human seroreactivity to gut microbiota antigens. *J Allergy Clin Immunol*. 2015; 136(5):1378–86. doi: 10.1016/j.jaci.2015.03.036
7. Salzillo M, Vastano V, Capri U, Muscariello L, Sacco M, Marasco R. Identification and characterization of enolase as a collagen-binding protein in *Lactobacillus plantarum*. *J Basic Microbiol*. 2015;55(7):890–7. doi: 10.1002/jobm.201400942
8. Cinque B, La Torre C, Melchiorre E, Marchesani G, Zoccali G, Palumbo P, et al. Use of probiotics for dermal applications. Verlag Berlin Heidelberg: Springer; 2011. doi: 10.1007/978-3-642-20838-6\_9
9. Hong YF, Lee YD, Park JY, Jeon B, Jagdish D, Jang S, Chung DK, Kim H. Immune Regulatory Effect of Newly Isolated *Lactobacillus delbrueckii* from Indian Traditional Yogurt. *J Microbiol Biotechnol*. 2015;25(8):1321–3. doi: 10.4014/jmb.1501.01057
10. Galdeano CM, Perdigon G. Role of viability probiotic strains in their persistence in the gut and mucosal immune stimulation. *J Appl Microbiol*. 2004;97:673–81. doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02353.x
11. Jeong JH, Lee CY, Chung DK. Probiotic lactic acid bacteria and skin health. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2015 Aug 19:0. [Epub ahead of print]. doi: 10.1080/10408398.2013.834874
12. Wang XF, Huang YF, Wang L, Xu LQ, Yu XT, Liu YH, Li CL, Zhan JY, Su ZR, Chen JN, Zeng HF. Photo-protective activity of pogostone against UV-induced skin premature aging in mice. *Exp Gerontol*. 2016;77:76–86. doi: 10.1016/j.exger.2016.02.017
13. Castiel I, Gueniche A. Cosmetic use of microorganism for the treatment of oily skin. US Patent 20110182861. July 2011.
14. Quan T, Fisher GJ. Role of Age-Associated Alterations of the Dermal Extracellular Matrix Microenvironment in Human Skin Aging: A Mini-Review. *Gerontology*. 2015;61(5):427–4. doi: 10.1159/000371708
15. Kang S. Photoaging and topical tretinoin: therapy, pathogenesis, and prevention. *Arch Dermatol*. 1997;133(10):1280–4. doi: 10.1001/archderm.133.10.1280
16. Ulisse S, Gionchetti P, D'Alò S, Russo FP, Pesce I, Ricci G, Rizzello F, Helwig U, Cifone MG, Campieri M, De Simone C. Expression of cytokines, inducible nitric oxide synthase, and matrix metalloproteinases in pouchitis: effects of probiotic treatment. *The American Journal of Gastroenterology*. 2001;96:2691–9. doi: 10.1111/j.1572-0241.2001.04139.x
17. Moorthy G. Protective role of lactobacilli in *Shigella dysenteriae* 1-induced diarrhea in rats. *Nutrition*. 2007;23(5):424–33. doi: 10.1016/j.nut.2007.03.003
18. Kim HM, Lee DE, Park SD, Kim YT, Kim YJ, Jeong JW, et al. Oral administration of *Lactobacillus plantarum* HY7714 protects hairless mouse against ultraviolet B-induced photoaging. *J Microbiol Biotechnol*. 2014;24(11):1583–91. doi: 10.4014/jmb.1406.06038
19. Hong YF, Lee HY, Jung BJ, Jang S, Chung

- DK, Kim H. Lipoteichoic acid isolated from *Lactobacillus plantarum* down-regulates UV-induced MMP-1 expression and up-regulates type I procollagen through the inhibition of reactive oxygen species generation. *Molecular Immunol.* 2015;67(2):248–55. doi: 10.1016/j.molimm.2015.05.019
20. Lee DE, Huh CS, Ra J, Choi ID, Jeong JW, Kim SH, et al. Clinical Evidence of Effects of *Lactobacillus plantarum* HY7714 on Skin Aging: A Randomized, Double Blind, Placebo-Controlled Study. *J Microbiol Biotechnol.* 2015; 25(12):2160–8. doi: 10.4014/jmb.1509.09021
21. Kim SY, Kim SJ, Lee JY, Kim WG, Park WS, Sim YC, Lee SJ. Protective effects of dietary soy isoflavones against UV-induced skin-aging in hairless mouse model. *J Am Coll Nutr.* 2004;23(2):157–62. doi: 10.1080/07315724.2004.10719356
22. Kim HR, Kim H, Jung BJ, You GE, Jang S, Chung DK. Lipoteichoic acid isolated from *Lactobacillus plantarum* inhibits melanogenesis in B16F10 mouse melanoma cells. *Mol Cells.* 2015;38(2):163–70. doi: 10.14348/molcells.2015.2263
23. Jenkins G. Molecular mechanism of skin ageing. *Mech Ageing Dev.* 2002;123(7):801–10. doi: 10.1016/S0047-6374(01)00425-0
24. Raschke C, Elsner P. Skin aging: a brief summary of characteristic changes. In: Farage M MK, Maibach HI, editor. *Text book of Skin Aging.* Verlag Berlin Heidelberg: Springer; 2010. p. 38-9. doi: 10.1007/978-3-540-89656-2\_5