

Pengaruh *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 Terhadap Kadar Calprotectin Feses sebagai Penanda Inflamasi Intestinal pada Bayi Kurang Bulan

Tisa Rahmawaty Savitri, Sjarif Hidajat, Anggraini Alam

Departemen Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/RSUP Dr Hasan Sadikin, Bandung

Latar belakang. Bayi kurang bulan (BKB) berisiko mengalami inflamasi intestinal akibat imaturitas fungsi saluran cerna. Penelitian terdahulu melaporkan pro-kontra probiotik yang dapat menurunkan kejadian penyakit inflamasi intestinal pada BKB, seperti enterokolitis nekrotikans dan sepsis. Pengukuran calprotectin feses sebagai penanda penyakit inflamasi merupakan metode noninvasif, cepat, dan mudah dilakukan.

Tujuan. Mengetahui pengaruh *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 terhadap kadar calprotectin feses pada BKB.

Metode. Penelitian eksperimental acak terkontrol pada BKB yang lahir di Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung selama bulan Maret sampai Juni 2018. Kelompok probiotik diberikan *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 selama 14 hari dan kelompok kontrol diberikan plasebo. Kadar calprotectin feses diperiksa sebelum dan sesudah perlakuan. Calprotectin diperiksa menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Data dianalisis menggunakan uji *Mann-Whitney* dan *Wilcoxon Signed Rank*, tingkat kemaknaan hasil uji ditentukan berdasarkan nilai $p < 0,05$.

Hasil. Empat puluh bayi diikutsertakan, 4 di antaranya mengalami *dropout*. Tiga puluh enam bayi yang dianalisis terbagi menjadi kelompok probiotik ($n=18$) dan nonprobiotik ($n=18$). Karakteristik dasar tidak berbeda antara kedua kelompok. Sebelum perlakuan, kadar calprotectin feses kedua kelompok tidak berbeda secara signifikan ($p=0,88$). Kadar calprotectin feses kelompok probiotik lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok nonprobiotik setelah perlakuan ($p < 0,001$).

Kesimpulan. Pemberian *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 dapat menurunkan kadar calprotectin feses. **Sari Pediatri** 2018;20(3):171-77

Kata kunci: bayi kurang bulan, calprotectin, probiotik

The Effect of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 on Fecal Calprotectin as A Marker of Intestinal Inflammation in Preterm Infant

Tisa Rahmawaty Savitri, Sjarif Hidajat, Anggraini Alam

Background. Preterm infants have risks to suffer intestinal inflammation due to immature function of the gastrointestinal tract. Previous studies reported procons probiotic could reduce the incidence of intestinal inflammatory disease in preterm infants such as necrotizing enterocolitis and sepsis. Fecal calprotectin measurement as a marker of inflammatory disease is a noninvasive, fast and simple method.

Objective. To determine the effect of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 on fecal calprotectin in preterm infants.

Methods. A randomized controlled trial of newborn preterm infants was conducted in Dr. Hasan Sadikin Hospital Bandung during March to June 2018. The probiotic group was given *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 for 14 days and the control group was given placebo. Fecal calprotectin was determined by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) before and after intervention. We used *Mann-Whitney* and *Wilcoxon Signed Rank test* analysis with a significance level of $p < 0.05$.

Results. Forty preterm infants were enrolled, 4 of which were dropped out. The rest 36 preterm infants were divided into probiotics ($n=18$) and nonprobiotics ($n=18$). The basic characteristics of both groups were similar. At pre-intervention, the fecal calprotectin did not differ significantly between probiotics and nonprobiotics group ($p=0,88$). In the probiotic group, the fecal calprotectin was significantly lower than nonprobiotic group post-intervention ($p < 0.001$).

Conclusion. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 administration might decrease the fecal calprotectin level. **Sari Pediatri** 2018;20(3):171-77

Keywords: preterm infants, calprotectin, probiotic

Alamat korespondensi: Tisa Rahmawaty Savitri, Departemen Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, RSUP Dr Hasan Sadikin Bandung, Indonesia. JL. Pasteur no 38 Bandung 40151. E-mail: tisa_rahmawaty@yahoo.com

Kelahiran kurang bulan bertanggung jawab terhadap 35% kematian bayi di dunia.¹ Tahun 2017 angka kematian bayi di Indonesia mencapai 15 per 1.000 kelahiran hidup. Prematuritas, infeksi, dan asfiksia merupakan tiga penyebab terbanyak kematian bayi di Indonesia. Bayi kurang bulan (BKB) lebih rentan mengalami sepsis dibandingkan bayi cukup bulan (BCB). Penelitian menunjukkan bahwa BKB memiliki risiko 4,8 kali untuk mengalami sepsis dibandingkan BCB.² Bayi kurang bulan memiliki sistem fisiologis imatur akibat fungsi gastrointestinal yang belum matang. Imaturitas fungsi pencernaan pada BKB seperti kemampuan motilitas, digesti, regulasi sirkulasi, fungsi pertahanan intestinal dan imaturitas sistem imunitas saluran cerna menyebabkan BKB berisiko tinggi mengalami enterokolitis nekrotikans (EKN) dan sepsis.^{3,4}

Bukti saat ini menunjukkan bahwa suplementasi probiotik secara signifikan mengurangi semua penyebab mortalitas dan morbiditas pada neonatus. Penggunaan probiotik di bidang neonatologi telah banyak direkomendasikan karena manfaat yang didapat terutama pada bayi yang lahir secara seksio sesarea, bayi yang tidak mendapat air susu ibu (ASI), dan BKB.⁵

Probiotik dapat mencegah terjadinya EKN melalui peranannya sebagai *barrier* migrasi bakteri melintasi mukosa intestinal, kompetitor flora patogen, mengurangi permeabilitas intestinal, menciptakan keseimbangan mikrobiota, efek proteksi mukosa terhadap kolonisasi patogen dan meningkatkan sitokin antiinflamasi.⁶⁻⁸

Pada beberapa penelitian telah menyebutkan manfaat pemberian probiotik untuk menurunkan kejadian EKN dan sepsis namun metode penelitian yang beragam menyulitkan penerapan hasil penelitian secara umum sehingga menimbulkan pro dan kontra penggunaan probiotik untuk BKB.⁹

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Indrio,⁸ Samanta,¹⁰ dan Awad¹¹ menyebutkan pemberian probiotik pada BKB dapat menurunkan kejadian EKN dan sepsis. Berbeda dengan penelitian Fernandez-Carrocera,¹² Braga,¹³ dan Sari¹⁴ yang menyebutkan tidak ada perbedaan kejadian EKN dan sepsis pada kelompok yang diberikan probiotik maupun plasebo.

Calprotectin merupakan suatu reaktan fase akut yang berperan dalam infeksi dan inflamasi. *Calprotectin* dapat dijadikan biomarker untuk beberapa penyakit inflamasi, termasuk *inflammatory bowel disease*,

sepsis dan EKN. Pengukuran *calprotectin* feses sebagai biomarka penyakit inflamasi merupakan metode noninvasif, cepat dan mudah dilakukan. *Calprotectin* merupakan protein sitosol yang berikatan dengan kalsium dan seng yang terdapat dalam neutrofil granulosit. Adanya defek atau peningkatan permeabilitas barrier mukosa intestinal menyebabkan terjadinya migrasi sejumlah besar granulosit ke dalam lumen intestinal sehingga *calprotectin* dapat ditemukan dalam feses. Pada keadaan inflamasi saluran cerna, kadar *calprotectin* feses akan meningkat.^{7,15,16}

Campeotto¹⁷ mengemukakan bahwa *calprotectin* feses dapat dijadikan penanda EKN stadium awal. Demikian juga penelitian yang dilakukan Mohan dan El-Frargy menyebutkan hal yang sama, terlebih pada penelitian ini menyebutkan terjadi penurunan kadar *calprotectin* feses pada bayi yang diberi suplementasi probiotik.^{18,19}

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 terhadap kadar *calprotectin* feses pada BKB.

Metode

Penelitian eksperimental acak terkontrol dilakukan pada BKB yang lahir dan dirawat di Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung selama bulan Maret sampai Juni 2018. Lembar persetujuan (*informed consent*) ditandatangani oleh orangtua setelah mendapatkan penjelasan serta menyetujui bayinya ikut dalam penelitian. Kriteria inklusi adalah BKB dengan usia gestasi 30-36 minggu menurut *New Ballard Score*, berat badan 1000-1800 gram, dan bayi dengan hemodinamik stabil dan tidak ada gangguan absorpsi minum. Kriteria eksklusi adalah BKB dengan kelainan kongenital pada saluran cerna seperti gastroskizis, omfalokel, hernia diafragma, jika mengalami sepsis berat serta jika tidak didapatkan feses dalam kurun waktu 2 hari sejak lahir. Alokasi subjek ke dalam perlakuan baik kelompok probiotik maupun nonprobiotik dilakukan secara randomisasi.

Terhadap subjek dilakukan pemeriksaan kadar *calprotectin* feses awal kemudian diberikan perlakuan selama 2 minggu dengan menggunakan probiotik atau plasebo. Pada akhir perlakuan diperiksakan kembali kadar *calprotectin* feses untuk diperbandingkan. Probiotik yang diberikan adalah galur *Lactobacillus*

reuteri DSM 17938 sebanyak 100 juta kuman, sedangkan untuk plasebo diberikan larutan aqua-bidestilata. Produk probiotik yang digunakan adalah Interlac®, diproduksi oleh PT. Interbat. Plasebo dimasukkan ke dalam botol yang sama bentuknya dengan Interlac®. Pada bagian luar kedua botol kemasan probiotik maupun plasebo ditutup oleh label dan diberikan nomor. Penentuan pengambilan nomor botol perlakuan dilakukan secara random. Pada akhir perlakuan label tersebut dibuka.

Selama pengamatan 2 minggu dilakukan kontrol pada setiap minggu untuk mengetahui keteraturan perlakuan dan mengevaluasi kondisi klinis subjek dalam kondisi tidak mengalami perburukan. Subjek akan di-dropout apabila data tidak lengkap.

Luaran setelah perlakuan dinilai menggunakan skor sepsis modifikasi Tollner yang terdiri atas penilaian klinis dan laboratorium. Kondisi klinis yang dinilai meliputi perubahan warna kulit, mikrosirkulasi (*capillary refill* memanjang >2 detik), hipotonia muskular, bradikardia (denyut jantung <100 kali per menit) atau takikardia (denyut jantung >180 kali per menit), serangan apnea (lebih dari 20 detik), distres pernapasan (takipnea >60 kali per menit), pembesaran hati (>2 cm dari bawah *arcus costarum*), dan munculnya gejala gastrointestinal (residu lambung meningkat, muntah, distensi abdomen, dan diare). Parameter laboratorium dinilai, antara lain, *C-reactive protein* (CRP) kuantitatif serum (>6 mg/L), jumlah leukosit (leukositosis >10.000/mm³ atau leukopenia <4000/mm³), pada hitung jenis terdapat peningkatan jumlah neutrofil batang ≥20% atau ditemukan sel muda 'myelo' atau seri eritopoiesis, dan trombositopenia (jumlah trombosit <100.000/mm³). Interpretasi skor modifikasi Tollner adalah skor 0–4,5 bukan sepsis, skor 5–10 tersangka infeksi, skor >10 mengarah ke sepsis.²

Setelah seluruh sampel feces terkumpul dari semua subjek (sebelum dan sesudah perlakuan), diperiksa kadar *calprotectin* menggunakan metode *enzymed-linked immunosorbent assay* (ELISA) di Laboratorium Klinis RSUP dr. Hasan Sadikin Bandung Feses yang diambil sebagai sampel pemeriksaan diambil dari diapers dengan menggunakan pot khusus. Pengukuran kadar *calprotectin* feces ditampilkan dalam µg/g.

Data yang diambil tersebut dimasukkan ke dalam program perangkat lunak SPSS for windows 21.0. Uji nonparametrik digunakan untuk mengetahui perbedaan kadar *calprotectin* feces kedua kelompok, karena kadar *calprotectin* berdistribusi tidak normal

maka dianalisis menggunakan uji *Mann-Whitney*. Uji *Wilcoxon Signed Rank* digunakan untuk mengetahui perbedaan kadar *calprotectin* feces kedua kelompok sebelum dan sesudah perlakuan. Tingkat kemaknaan penelitian ini dinyatakan bila nilai $p < 0,05$. Penelitian ini telah mendapat persetujuan Komite Etik Penelitian Kesehatan RSHS.

Hasil

Selama kurun waktu penelitian didapatkan 252 BKB yang lahir di RSHS. Dari 76 bayi yang memenuhi kriteria inklusi, 40 bayi diikutsertakan dalam penelitian. Selama penelitian, 4 subjek *drop out* dari penelitian karena 3 subjek pulang atas permintaan keluarga dan 1 mengalami sepsis berat. Pada seluruh subjek, pengambilan sampel feces sebelum perlakuan tidak dapat dikerjakan secara simultan pada hari ke-0 dikarenakan feces keluar sebelum bayi memenuhi syarat pemberian *initial feeding* ataupun jumlah feces yang terlalu sedikit. Pengambilan sampel feces di pada hari ke-0 dilakukan pada 15 bayi, 8 dari kelompok probiotik dan 7 dari kelompok nonprobiotik. Sembilan belas bayi lainnya diambil sampel feces di usia hari ke-1.

Pengambilan sampel feces setelah perlakuan dilakukan pada hari ke-14-18. Apabila subjek diperbolehkan pulang sebelum 2 minggu maka selanjutnya probiotik diberikan oleh keluarga di rumah dan tetap dilakukan pemantauan lewat telepon. Selanjutnya sampel feces diambil di rumah atau di poliklinik saat bayi kontrol.

Tabel 1 memperlihatkan karakteristik dasar subjek penelitian. Pada kedua kelompok tidak menunjukkan ada perbedaan dalam hal jenis kelamin, usia kehamilan, cara lahir, berat badan lahir, dan asfiksia. Tiga puluh dua subjek mendapat antibiotik sejak usia hari pertama, masing-masing 16 subjek dari setiap kelompok ($p=1,000$). Keseluruhan subjek mendapatkan susu formula sebagai *initial feeding*.

Tabel 2 menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna kadar *calprotectin* feces sebelum perlakuan pada kelompok probiotik dan nonprobiotik. Sementara setelah perlakuan menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat bermakna. Penurunan kadar *calprotectin* pada kelompok yang diberi probiotik lebih besar dibandingkan dengan kelompok nonprobiotik.

Tabel 1. Karakteristik dasar subjek penelitian

Karakteristik	Kelompok	
	Probiotik (n=18)	Nonprobiotik (n=18)
Jenis kelamin		
Laki-laki	11	10
Perempuan	7	8
Usia kehamilan (minggu)		
Rata-rata	32,7	32,2
Rentang	30 – 35	30 – 35
Cara lahir		
Spontan	3	0
Seksio sesarea	15	18
Berat badan lahir (gram)		
Rata-rata	1411,1	1455,6
Rentang	1000 - 1700	1050 – 1750
Asfiksia		
Ya	15	16
Tidak	3	2
Pemberian antibiotik		
Ya	16	16
Tidak	2	2

Tabel 2. Pengaruh pemberian probiotik terhadap kadar *calprotectin* feses

Kadar <i>calprotectin</i> feses (µg/g)	Kelompok		Nilai p ^{*)}
	Probiotik (n=18)	Non probiotik (n=18)	
Sebelum perlakuan			
Rata-rata (SD)	543,6 (414,9)	547,8 (431,8)	0,888
Median	376,6	412,2	
Rentang	104,4-1140,9	106,1-1350,9	
Sesudah perlakuan			
Rata-rata (SD)	30,7 (44,1)	254,0 (289,9)	
Median	19,7	154,6	
Rentang	1,2 – 177,5	77,0-1140,0	<0,001
Perbandingan sebelum vs sesudah perlakuan	p<0,001 ^{**)}	p<0,001 ^{**)}	
Persentase penurunan kadar <i>calprotectin</i> (median)	95,8 %	44,0 %	<0,001

Keterangan: *) Analisis menggunakan Uji Mann-Whitney, bermakna bila nilai p<0,05

***) Analisis menggunakan Uji Wilcoxon, bermakna bila nilai p<0,05

Selama penelitian dilakukan pemantauan klinis setiap hari untuk memonitor efek samping gastrointestinal yang mungkin terjadi, seperti diare, konstipasi, perut kembung, retensi cairan lambung, muntah serta tanda, dan gejala sepsis. Pemeriksaan darah lengkap, kadar CRP, glukosa darah dilakukan pada usia 0 hari. Hipoglikemia simptomatis ditemukan pada 2 bayi, masing-masing 1 bayi di antara kedua kelompok, tetapi membaik dengan pemberian infus cairan D10%. Tiga bayi dari kelompok nonprobiotik mengalami diare.

Retensi cairan lambung pada kelompok probiotik lebih sedikit terjadi (5 vs 9 bayi).

Setelah mendapat perlakuan selama 2 minggu, penilaian luaran subjek menggunakan skor sepsis modifikasi Tollner, terdiri atas penilaian klinis dan laboratorium tertera pada Tabel 3. Tidak terdapat perbedaan luaran yang bermakna antara kedua kelompok dalam hal jumlah leukosit, jumlah trombosit, dan kadar CRP (p>0,05). Perbedaan yang bermakna dalam skor modifikasi Tollner pada

Tabel 3. Perbandingan luaran

Luaran	Kelompok		Nilai p*
	Probiotik Median (rentang) (n=18)	Nonprobiotik Median (rentang) (n=18)	
Jumlah Leukosit (/mm ³)	14.665 (4.060–17.360)	16.960 (4.990–30.250)	0,143
Jumlah Trombosit (/mm ³)	228.000 (142.000–367.000)	246.500 (67.000–860.000)	0,743
CRP (mg/dl)	0,2 (0–2,8)	1,29 (0–4,31)	0,068
Skor Tollner	1 (0–7)	4 (1–9)	0,004

Keterangan: *) uji Mann-Whitney, bermakna bila nilai $p < 0,05$

kelompok probiotik dan nonprobiotik ($p=0,004$). Pada kelompok nonprobiotik terdapat 1 subjek yang secara klinis mengarah ke sepsis sesuai dengan skor modifikasi Tollner dengan hasil kultur darah *Enterobacter cloacae*.

Pembahasan

Nilai median kadar *calprotectin* lebih tinggi dibandingkan dengan *cut-off point* kadar *calprotectin* feces pada penelitian Campeotto. Perbedaan ini disebabkan karena Campeotto mengambil subjek yang berbeda yaitu neonatus dengan usia gestasi cukup bulan.¹⁷ Hasil penelitian Kapel¹⁶ juga menyebutkan hasil yang sama, yaitu kadar *calprotectin* feces pada BKB lebih tinggi dibandingkan BCB. Peningkatan kadar *calprotectin* ini menunjukkan peningkatan permeabilitas intestinal sehingga menyebabkan migrasi neutrofil ke dalam lumen dan mukosa usus sebagai bagian dari proses pembentukan *gut-associated lymphoid tissue* (GALT) sehingga *calprotectin* ditemukan dalam feces. Faktor lain yang dapat memengaruhi kadar *calprotectin* yang tinggi adalah pengambilan sampel feces langsung dari popok menyebabkan air diserap langsung ke dalam popok.^{15,16}

Kadar *calprotectin* feces dapat dijadikan biomarker penyakit inflamasi termasuk EKN dan sepsis. Zhang²⁰ dan El Frargy¹⁹ menyebutkan bahwa kadar *calprotectin* feces dapat digunakan prediktor dini EKN dan enteropati dengan *cut off point* 281 dan 482 $\mu\text{g/g}$. Pada penelitian ini nilai rerata kadar *calprotectin* feces lebih rendah. Hal tersebut menunjukkan bahwa subjek tidak mengalami EKN maupun enteropati.

Terdapat penurunan kadar *calprotectin* feces, baik pada kelompok probiotik maupun nonprobiotik. Hal ini sesuai dengan perjalanan alamiahnya bahwa

kadar *calprotectin* feces akan menurun sejalan dengan bertambahnya umur.¹⁵ Persentase penurunan kadar *calprotectin* feces pada kelompok probiotik lebih besar dibandingkan dengan kelompok nonprobiotik dengan tingkat kemaknaan $p < 0,001$. Hal tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan probiotik berpengaruh dalam menurunkan kadar *calprotectin*.^{18,19}

Probiotik telah digunakan dalam penelitian sebelumnya dengan populasi BKB atau berat badan lahir rendah (BBLR). Pada penelitian kami, probiotik yang digunakan adalah galur *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 selama 14 hari sedangkan El-Frargy menggunakan kombinasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* selama 14 hari untuk mengurangi kejadian EKN dan sepsis serta *calprotectin* feces dibandingkan kelompok plasebo.¹⁹ Mohan¹⁸ melaporkan hal yang sama, yaitu pemberian *Bifidobacterium lactis Bb12* selama 21 hari pada BKB dapat menurunkan kadar *calprotectin* feces serta kejadian EKN.

Pada penelitian Oncel²¹ probiotik galur *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 telah diberikan pada BKB dan BBLR dengan hasil kejadian EKN tidak berbeda antara kelompok probiotik dan plasebo, tetapi pada kedua penelitian ini tidak diukur kadar *calprotectin* feces.

Luaran setelah perlakuan dinilai menggunakan skor sepsis modifikasi Tollner yang terdiri atas penilaian klinis dan laboratorium. Pada penelitian ini seluruh subjek pada kedua kelompok setelah perlakuan tidak mengalami sepsis dilihat dari nilai median skor modifikasi Tollner pada kedua kelompok.

Keseluruhan subjek setelah mendapat perlakuan memiliki kadar CRP < 6 mg/L sehingga tidak menunjukkan adanya inflamasi sistemik. Kadar CRP tidak dapat digunakan sebagai prediktor timbulnya EKN karena CRP juga meningkat pada keadaan

inflamasi sistemik lain sehingga CRP tidak spesifik untuk EKN.²³ Meskipun demikian, kondisi ini tidak menyingkirkan kemungkinan adanya inflamasi intestinal karena tidak dilakukan perhitungan jumlah koloni dan kultur kuman intestinal.

Berbeda dengan kadar CRP, menurut penelitian sebelumnya kadar *calprotectin* feses telah banyak digunakan prediktor EKN.^{11,19,24} Pada kondisi EKN maupun sepsis terjadi inflamasi dimana neutrofil yang teraktivasi akan menginfiltrasi mukosa intestinal dan menghasilkan sitokin dan kemokin proinflamasi yang akan mengaktivasi sel-sel inflamasi termasuk makrofag ke saluran cerna. Neutrofil juga akan bermigrasi ke lumen saluran cerna pada keadaan inflamasi intestinal sehingga akan meningkatkan ekskresi *calprotectin* dalam feses. Dengan demikian, *calprotectin* feses dapat digunakan sebagai penanda inflamasi intestinal.⁷

Pengukuran kadar *calprotectin* feses sebagai penanda inflamasi intestinal merupakan metode yang non-invasif, cepat, dan mudah dilakukan. Ikatan *calprotectin* dengan kalsium menyebabkan protein ini tahan terhadap degradasi bakteri feses dan tetap stabil selama tujuh hari pada suhu kamar.¹⁷

Tidak terdapat korelasi penurunan persentase kadar *calprotectin* feses dengan luaran subjek setelah perlakuan. *C-reactive protein*, reaktan fase akut yang akan meningkat pada keadaan inflamasi sistemik, sebagai luaran berkorelasi negatif dengan penurunan kadar *calprotectin*, dengan nilai statistik yang tidak bermakna. Ini menunjukkan bahwa inflamasi sistemik tidak memengaruhi kadar *calprotectin* feses apabila tidak didapatkan manifestasi klinis abdominal, sesuai dengan teori yang menyebutkan bahwa *calprotectin* dapat ditemukan dalam feses apabila terdapat kerusakan pada integritas mukosa intestinal.²⁴

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukan perhitungan jumlah koloni kuman intestinal sehingga belum dapat disingkirkan subjek tidak mengalami infeksi saluran cerna. Selain itu, penelitian ini tidak dilakukan konfirmasi diagnosis EKN sehingga belum dapat disingkirkan subjek tidak mengalami EKN. Penelitian uji klinis lain yang lebih lengkap masih diperlukan untuk menyempurnakan hasil yang didapatkan.

Kesimpulan

Pemberian probiotik *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 pada BKB dapat menurunkan kadar *calprotectin* feses.

Dengan demikian diharapkan dapat menjadi bahan referensi tentang perlunya pemberian probiotik pada BKB untuk mencegah terjadinya inflamasi intestinal.

Daftar pustaka

1. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Preterm birth 1: epidemiology and causes of preterm birth. *Obstet Anesth Dig* [Internet] 2009;29:6-7.
2. Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. *Pediatr Clin North Am* 2004;51:939-59.
3. Patel BK, Shah JS. Necrotizing enterocolitis in very low birth weight Infants: a systemic review. *ISRN Gastroenterol* [Internet] 2012;2012:1-7.
4. Lee JH. An update on necrotizing enterocolitis: Pathogenesis and preventive strategies. *Korean J Pediatr* 2011;54:368-72.
5. Yuniati T. Peningkatan berat badan bayi baru lahir dengan seksio sesarea yang diberikan kombinasi asi dengan susu formula mengandung probiotik dan nonprobiotik. *Sari Pediatri* 2012;14:251-5.
6. Sarkar S, Sur A, Das K, J.Boral. Safety of probiotics for preterm infants – a review. *Nutr Food Toxicol* 2017;1:219-27.
7. Leach ST, Day AS. S100 proteins in the pathogenesis and diagnosis of inflammatory bowel disease. *Expert Rev Clin Immunol* 2006;2:471-80.
8. Indrio F, Riezzo G, Raimondi F, Bisceglia M, Cavallo L, Francavilla R. The effects of probiotics on feeding tolerance, bowel habits, and gastrointestinal motility in preterm newborns. *J Pediatr* 2008;152:801-6.
9. Ofek Shlomai N, Deshpande G, Rao S, Patole S. Probiotics for preterm neonates: what will it take to change clinical practice? *Neonatology* 2013;105:64-70.
10. Samanta M, Sarkar M, Ghosh P, Ghosh JK, Sinha MK, Chatterjee S. Prophylactic probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in very low birth weight newborns. *J Trop Pediatr* 2009;55:128-31.
11. Awad h, Mokhtar H, Imam SS, Gad GI, Havez H, Aboushady N. Comparison between killed and living probiotic usage versus placebo for the prevention of necrotizing enterocolitis and sepsis in neonates. *Pakistan J Biol Sci* 2010;13:253-62.
12. Fernández-Carrocerá LA, Solís-Herrera A, Cabanillas-Ayón M, Gallardo-Sarmiento RB, García-Pérez CS, Montañó-Rodríguez R, dkk. Double-blind, randomised clinical assay to evaluate the efficacy of probiotics in preterm newborns weighing less than 1500 g in the prevention of necrotising enterocolitis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2013;98:F5-9.
13. Braga TD, Alves G, Israel P, Lira C De, Lima MDC. Efficacy of bifidobacterium breve and lactobacillus casei oral

- supplementation on necrotizing enterocolitis in very-low-birth-weight preterm infants : a double-blind, randomized, controlled trial 1-3. *J Clin* 2011;81-6.
14. Sari FN, Dizdar EA, Oguz S, Erdeve O, Uras N, Dilmen U. Oral probiotics: lactobacillus sporogenes for prevention of necrotizing enterocolitis in very low-birth weight infants: a randomized, controlled trial. *Eur J Clin Nutr [Internet]* 2011;65:434-9.
 15. Savino F, Castagno E, Calabrese R, Viola S, Oggero R, Miniero R. High faecal calprotectin levels in healthy, exclusively breast-fed infants. *Neonatology* 2010;97:299-304.
 16. Kapel N, Campeotto F, Kalach N, Baldassare M, Butel MJ, Dupont C. Faecal calprotectin in term and preterm neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010;51:542-7.
 17. Campeotto F, Butel MJ, Kalach N, Derriex S, Aubert-Jacquin C, Barbot L, dkk. High faecal calprotectin concentrations in newborn infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004;89:353-6.
 18. Mohan R, Koebnick C, Schildt J, Mueller M, Radke M, Blaut M. Effects of bifidobacterium lactis bb12 supplementation on body weight, fecal ph, acetate, lactate, calprotectin, and igA in preterm infants. *Pediatr Res* 2008;64:418-22.
 19. El-frargy MS, Hassan AM. The effect of probiotics supplementation on fecal calprotectin as an early marker of neonatal enteropathy. *J Am Sci* 2014;10:209-13.
 20. Zhang NM, Zhang X, Zhang J. Diagnostic value of fecal calprotectin in preterm infants with necrotizing enterocolitis. *Clin Lab.* 2016;62:863-9.
 21. Oncel MY, Sari FN, Arayici S, Guzoglu N, Erdeve O, Uras N, dkk. Lactobacillus reuteri for the prevention of necrotising enterocolitis in very low birthweight infants: a randomised controlled trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2014;99:110-6.
 22. Shadkam MN, Jalalizadeh F, Nasiriani K. Effects of probiotic lactobacillus reuteri (DSM 17938) on the incidence of necrotizing enterocolitis in very low birth weight premature infants. *Iran J Neonatol* 2015;6:15-20.
 23. Fox TP, Godavitarne C. What really causes necrotising enterocolitis? *ISRN Gastroenterol* 2012;2012:628317.
 24. Aydemir O, Aydemir C, Sarikabadayi YU, Emre Canpolat F, Erdeve O, Biyikli Z, dkk. Fecal calprotectin levels are increased in infants with necrotizing enterocolitis. *J Matern Neonatal Med* 2012;25:2237-41.