

Bacillus Coagulans GBI-30,6068 Bagi Aktivitas Probiotik dan Keamanan Untuk Mengurangi Gejala Saluran Pernapasan Atas Dan Pencernaan Pada Anak-Anak Dengan Modulasi Protein Terkait Imunitas

Reynaldi Febriyan Haholongan (1) , Raden Fadly Bayu Dwiyo (2)

Mahasiswa Jurusan Biologi Prodi Biologi Terapan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung

reynaldifebriyan@gmail.com (1), fadlybayu619@gmail.com (2)

ABSTRAK

Studi acak, tersamar ganda, paralel dan terkontrol plasebo ini bertujuan untuk mengevaluasi efek *Bacillus coagulans* GBI-30,6086[®] probiotik (GanedenBC^{30®}) terhadap infeksi saluran pernapasan atas (URTI) dan infeksi saluran cerna gas (GITI) di delapan puluh anak usia sekolah yang sehat (6-8 tahun). Data dikelompokkan berdasarkan perlakuan (probiotik atau plasebo) dan waktu percobaan (bulan 0 atau 3). Kemudian, outlier ekstrim diidentifikasi dengan membangun boxplot (Grafik Box & Whiskers). Menariknya, pemberian GanedenBC³⁰ selama tiga bulan secara signifikan ($p < 0,05$) menurunkan kadar serum sembilan protein: TNF α , CD163, G-CSF, ICAM-1, IL-6, IL-8, MCP-2, RAGE, dan uPAR, dan peningkatan kadar serum PF4 dibandingkan dengan kondisi awal, yang tidak terpengaruh dengan pengobatan plasebo. Oleh karena itu, probiotik *B. coagulans* GBI-30, 6086 memodulasi protein yang berhubungan dengan kekebalan pada anak-anak yang sehat, mengurangi beberapa gejala URTI dan GITI, dengan demikian, bahan fungsional ini dapat berkontribusi pada gaya hidup yang lebih sehat..

Kata Kunci: Probiotik, agen antibiotik, *Bacillus coagulans*, infeksi pernafasan atas, infeksi pencernaan

ABSTRACT

This double-blind, parallel and placebo-controlled study aimed at infection with the probiotic GBI-30,6086[®] (GanedenBC^{30®}) bacteria of the upper respiratory tract (URTI) and respiratory tract (GITI) in eighty healthy school-age children (6 -8 years). Data were based on treatment (probiotic or placebo) and time of trial (months 0 or 3). Then, extreme outliers are identified by constructing a boxplot (Box & Whiskers Graph). Interestingly, presenting GanedenBC³⁰ for three months significantly ($p < 0.05$) decreased serum levels of nine proteins: TNF α , CD163, G-CSF, ICAM-1, IL-6, IL-8, MCP-2, RAGE, and uPAR., and increased serum PF4 levels compared with baseline, which were not affected by placebo treatment. Therefore, the probiotic *B. coagulans* GBI-30, 6086 modulates immune-related proteins in healthy children, reducing some symptoms of URTI and GITI, thus, this functional ingredient may contribute to a healthier lifestyle.

Keywords: Probiotic, antibiotic agent, *Bacillus coagulans*, Upper Respiratory Tract Infections, Gastrointestinal Tract Infections

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang dalam jumlah tertentu dapat bermanfaat bagi kesehatan inangnya (FAO/WHO, 2002). Manfaat dari probiotik antara lain memiliki antikarsinogenik, mampu memodulasi dan memperkuat sistem imun, memiliki manfaat bagi kesehatan saluran pernafasan atas, dan manfaat bagi saluran pencernaan gastrointestinal, serta manfaat lainnya. Dalam penentuan mikroorganisme atau strain apa yang akan digunakan sebagai agen antibiotik, haruslah melewati berbagai uji dengan berbagai persyaratan seperti uji resistensi terhadap antibiotik, lysozyme dan enzim-enzim pada pankreas, uji ketahanan terhadap keasaman pada perut dan empedu, dan uji ketahanan dalam menghadapi patogen-patogen dalam saluran pencernaan. Infeksi saluran pernafasan (URTI) atas dan pencernaan (GITI) merupakan infeksi paling umum yang terjadi pada anak-anak. Jumlah kematiannya juga sangat besar, yakni >5 juta kasus pada tahun 2015 (WHO, 2015). Infeksi saluran pernafasan atas dapat disebabkan oleh virus seperti rhinovirus, parainfluenza, respiratory syncytial virus (RSV), adenovirus, human metapneumovirus, and bocavirus. Sedangkan infeksi pencernaan (gastrointestinal) yang sering terjadi adalah diare, konstipasi, inflamasi usus, dan muntah-muntah. *Bacillus coagulans* merupakan strain bakteri asam laktat non-patogenik gram positif aerobik ataupun terkadang anaerobik berspora yang aman dikonsumsi manusia. Strain baru dari bakteri probiotik ini berpotensi digunakan dalam penelitian dalam industri pangan. Namun dalam pemanfaatannya perlu diawasi karena dapat membawa karakteristik sensorik baru pada makanan. Probiotik dari *Bacillus coagulans* GBI-30, 6068 telah diketahui secara luas sebagai probiotik yang dapat meningkatkan respon imun manusia terhadap virus umum penyebab URTI. Terlebih dapat mengurangi gejala GITI pada orang dewasa.

2. Perumusan Masalah

Dari latar belakang masalah yang telah diuraikan di atas, maka rumusan masalah yang akan dikaji dalam penelitian ini adalah Infeksi saluran pernafasan (URTI) atas dan pencernaan (GITI) merupakan infeksi paling umum yang terjadi pada anak-anak. Jumlah kematiannya juga sangat besar, yakni >5 juta kasus pada tahun 2015 (WHO, 2015). Infeksi saluran pernafasan atas dapat disebabkan oleh virus seperti rhinovirus, parainfluenza, respiratory syncytial virus (RSV), adenovirus, human metapneumovirus, and bocavirus. Sedangkan infeksi pencernaan (gastrointestinal) yang sering terjadi adalah diare, konstipasi, inflamasi usus, dan muntah-muntah.

3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji efektifitas probiotik GanedenBC³⁰ pada anak-anak usia sekolah.

4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas dari probiotik GanedenBC³⁰ pada anak-anak

II. METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di Querétaro, México pada 2019.

Rancangan Penelitian atau Model

Untuk mengevaluasi dampak probiotik GanedenBC³⁰ pada anak-anak digunakan rancangan penelitian dalam waktu tiga bulan, double-blinded, paralel, plasebo terkontrol dan acak.

Intervensi terdiri dari pemberian sachet 2 g setiap hari mengandung probiotik GanedenBC³⁰ ($\sim 1 \times 10^9$ CFU/2 g sachet) atau maltodekstrin (plasebo) selama tiga bulan. Semua perawatan dilarutkan dalam ~ 50 mL air rasa dan segera diberikan ke peserta oleh anggota tim peneliti pada hari kerja dan oleh orang tua atau wali sah pada akhir pekan. Sampel darah dikumpulkan pada bulan 0 dan 3 untuk pemisahan serum, yang disimpan pada -80°C sampai analisis.

Bahan dan Peralatan

Pada penelitian Miriam A, bahan yang digunakan sebagai objek penelitian adalah *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 strain (GanedenBC30) dan plasebo (maltodekstrin) yang disumbangkan oleh Ganeden, Inc. (Mayfield Heights, OH, USA). Probiotik GanedenBC30 terdiri dari *B. koagulan* yang diperoleh melalui fermentasi, diperoleh kembali dengan sentrifugasi, dan dikeringkan dengan semprotan maltodekstrin, sedangkan plasebo hanya terdiri dari maltodekstrin (88,1% atau lebih pentasakarida, Maltrin M100, Grain Processing Co., Muscatine, IA, USA). Kedua produk tersebut dikemas dalam sachet berisi 2 gram. Sachet probiotik mengandung $\sim 1 \times 10^9$ CFU/2 g *B. coagulans*. Kedua produk stabil pada suhu kamar dan dalam bentuk bubuk terdispersi selama penelitian. Kedua sachet itu identik dalam rasa dan penampilan. Sementara pada penelitian Gozde Konuray menggunakan *B. koagulan* GBI-30, 6086 dibeli dari Ganeden Biotech Inc. (Ketinggian Mayfield, OH). *B. koagulan* GBI-30, 6086 adalah galur probiotik komersial dengan nama GanedenBC30 dalam bentuk semprot kering. Itu dikonfirmasi sebagai strain murni *B. koagulan* Palu, yang pertama diisolasi dari susu evaporasi kalengan (Administrasi Makanan dan Obat-obatan (FDA), 2021). Indikator regangan *B. cereus*, *B. subtilis*, *Escherichia coli* NCTC 12241, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 dan *Salmonella* sp. diperoleh dari Universitas ukurova, Departemen Teknik Pangan, Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan ditumbuhkan dalam kaldu Nutrient (NB) pada suhu 37°C selama 18 jam. Semua bahan kimia dibeli dari Merck, Jerman, jika tidak disebutkan sebaliknya.

Tahapan Penelitian

Pengumpulan Data

Pada penelitian ini, pengumpulan data dilakukan dengan mengumpulkan anak-anak dari usia 6-8 tahun. Data dikategorikan menjadi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi. Kriteria inklusi berisi anak-anak dengan kondisi kesehatan yang relatif normal, dan kriteria eksklusi berisi anak-anak dengan penyakit infeksi saluran pernafasan atas dan pencernaan parah. Peserta diminta untuk tidak mengonsumsi obat-obatan pharmaceutical seperti anti-inflammatory, immunosuppressive, dan laxative agents, dan konsumsi suplemen probiotik maupun prebiotik selama masa penelitian.

Analisis Hematologi Dilakukan pengambilan sampel darah dari setiap peserta dalam kondisi puasa. Dihitung analisis Total Blood Count (TBC) nya. Indikator yang hendak diperiksa antara lain hemoglobin (HGB), hematokrit (HCT), jumlah sel darah merah dan putih (RBC dan WBC), mean corpuscular volume (MCV), mean konsentrasi hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin konsentrasi (MCHC), jumlah dan persentase limfosit (LYM), granulosit (GRA), neutrofil (NEU), dan trombosit (PLT).

Kuantifikasi protein terkait kekebalan Kadar serum Immunoglobulin A (IgA), E (IgE), G (IgG), dan M (IgM) diukur dengan kit enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Protein yang termasuk dalam susunan adalah sebagai berikut: CD40, CRP, E selectin, IL-1a, IL-1b, IL-2 Ra, IL-10, IL-13, IL-18, ST2, TNF α , CD14, CD163, FAS, FASL, G-CSF, ICAM-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-12 p70, Lipocalin-2, MCP-1, MCP-2, MIF, MIP-1a, MIP-1b, OPN, PAI-I, PF4, Prokalsitonin, RAGE, Resistin, Trombomodulin, TREM-1, uPAR, VCAM-1, dan VEGF. Susunan antibodi mencakup kontrol positif dan negatif dan setiap antibodi disusun dalam rangkap empat. Kuantifikasi simultan dari protein terkait

kekebalan dinilai sesuai dengan protokol pabrikan. Bintik-bintik protein dideteksi menggunakan Cy3 berlabel-streptavidin, dan kepadatan setiap titik ditentukan dengan pemindai laser (Genepix 4100 Microarray Scanner). Normalisasi slide intra dan antar kaca dilakukan untuk semua sampel, menggunakan dua kontrol positif untuk normalisasi. Standar dimasukkan dalam susunan antibodi untuk pembuatan kurva standar untuk setiap protein, yang dianalisis baik dengan regresi linier atau algoritma log-log untuk memenuhi kebutuhan analisisnya.

III. HASIL

Karakteristik Dasar

Sebanyak 80 anak terdaftar dalam penelitian ini, yang diacak ke dalam kelompok probiotik ($n = 40$) dan kelompok plasebo ($n = 40$). Tidak ada perbedaan signifikan yang diamati dalam distribusi gender dan usia antar kelompok. Pemberian plasebo dan probiotik selama 3 bulan secara signifikan ($p < 0,05$) meningkatkan sel darah merah (RBC, $\sim 2,8\%$), hemoglobin (HGB, $2,8-3,1\%$), hematokrit (HCT, $\sim 3,6\%$), dan limfosit (LYM, $12-14\%$) dibandingkan dengan kondisi awal (bulan 0). Pemberian probiotik secara signifikan ($p < 0,05$) meningkatkan rata-rata volume trombosit (MVP, $3,7\%$) yang tidak dimodifikasi dengan plasebo. Sebaliknya, plasebo secara signifikan ($p < 0,05$) meningkatkan jumlah monosit, basofil dan eosinofil (MXD, $22,9\%$) dan jumlah neutrofil (NEU, $17,5\%$), yang tidak dimodulasi oleh probiotik. Penting untuk disebutkan bahwa semua data hematologi berada dalam nilai referensi. Selain itu, variabilitas yang diamati pada kondisi awal dan akhir dari kedua kelompok eksperimen berada dalam variabilitas normal parameter hematologi ini; oleh karena itu, tidak ada signifikansi biologis yang dapat disimpulkan dengan hasil ini. Salah satu penjelasan yang mungkin dari peningkatan kadar parameter hematologi ini adalah hemokonsentrasi karena asupan air yang lebih rendah, karena penelitian dilakukan dari September hingga November yang sedang musim dingin yang dikaitkan dengan dehidrasi. Dengan demikian, dehidrasi ringan telah dikaitkan dengan sedikit peningkatan HGB dan HCT. Namun demikian, kami tidak memasukkan asupan air dalam kuesioner untuk mendukung hipotesis ini.

Analisis Protein Terkait Kekebalan

Antibodi serum dan protein terkait kekebalan diukur untuk memahami efek imunomodulator probiotik BC-30 pada gejala URTI dan GITI. Pengaruh probiotik BC-30 pada empat serum imunoglobulin (IgA, IgE, IgG, dan IgM). Suplementasi GanedenBC30 selama tiga bulan secara signifikan ($p < 0,05$) meningkatkan IgE serum sebesar $17,3\%$ dibandingkan dengan kondisi awal (bulan 0), sedangkan imunoglobulin ini tidak terpengaruh pada kelompok plasebo. Namun demikian, kadar IgE serum tetap dalam nilai referensi normal (< 1600 UI/mL). IL-1b secara signifikan ($p < 0,05$) meningkat dengan suplementasi GanedenBC30 ($24,2\%$) tetapi secara signifikan ($p < 0,05$) menurun dengan pengobatan plasebo ($27,1\%$). Selain itu, anak-anak yang diobati dengan plasebo selama tiga bulan menunjukkan penurunan kadar serum IgM ($12,3\%$), IL-18 ($21,5\%$), FASL ($36,8\%$), Osteopontin (OPN, $89,7\%$), Procalcitonin ($36,5\%$), dan Thrombomodulin ($29,2\%$), dan secara signifikan ($p < 0,05$) meningkatkan Resistin ($107,6\%$) dibandingkan dengan kondisi awal, yang tidak terpengaruh oleh pemberian probiotik. Menariknya, pemberian GanedenBC30 selama tiga bulan secara signifikan ($p < 0,05$) menurunkan kadar serum sembilan protein: TNF α , CD163, G-CSF, ICAM-1, IL-6, IL-8, MCP-2, RAGE, dan uPAR, dan peningkatan kadar serum PF4 dibandingkan dengan kondisi awal, yang tidak terpengaruh dengan pengobatan plasebo. Namun demikian, kadar IgE serum tetap dalam nilai referensi normal (< 1600 UI/mL). Selain imunoglobulin, tiga puluh sembilan protein terkait respon imun manusia diukur (Tabel 5). Tiga protein (ST2, FAS, dan Lipocalin-2)

berkurang secara signifikan ($p < 0,05$) dengan pemberian GanedenBC30 dan plasebo (19,7–24,4, 30,5–36,0, dan 16,8–18,7%, masing-masing). Penurunan kadar serum lipocalin-2 pada kedua kelompok eksperimen dapat dikaitkan dengan lingkaran pinggang bawah yang diamati pada akhir penelitian, karena protein ini merupakan adipokin yang terlibat dengan remodeling jaringan adiposa putih dan secara positif terkait dengan indeks massa tubuh. IL-1b secara signifikan ($p < 0,05$) meningkat dengan suplementasi GanedenBC30 (24,2%) tetapi secara signifikan ($p < 0,05$) menurun dengan pengobatan plasebo (27,1%). Selain itu, anak-anak yang diobati dengan plasebo selama tiga bulan menunjukkan penurunan kadar serum IgM (12,3%), IL-18 (21,5%), FASL (36,8%), Osteopontin (OPN, 89,7%), Procalcitonin (36,5%), dan Thrombomodulin (29,2%), dan secara signifikan ($p < 0,05$) meningkatkan Resistin (107,6%) dibandingkan dengan kondisi awal, yang tidak terpengaruh oleh pemberian probiotik. Menariknya, pemberian GanedenBC30 selama tiga bulan secara signifikan ($p < 0,05$) menurunkan kadar serum sembilan protein: TNF α , CD163, G-CSF, ICAM-1, IL-6, IL-8, MCP-2, RAGE, dan uPAR, dan peningkatan kadar serum PF4 dibandingkan dengan kondisi awal, yang tidak terpengaruh dengan pengobatan plasebo.

IV. KESIMPULAN

Konsumsi *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 (GanedenBC30) menurunkan angka kejadian hidung tersumbat, hidung berdarah, hidung gatal, suara serak, dan perut kembung, serta durasi suara serak, sakit kepala, mata merah dan kelelahan di sekolah sehat. -anak-anak berusia lebih dari tiga bulan. Efek menguntungkan pada gejala infeksi saluran pernapasan atas dan gastrointestinal ini dikaitkan dengan modulasi sistem kekebalan, karena GanedenBC30 mengubah kadar serum TNF α , CD163, G-CSF, ICAM-1, IL-6, IL-8, MCP2, RAGE, uPAR, dan PF4. Oleh karena itu, hasil ini menunjukkan bahwa GanedenBC30 dapat digunakan sebagai bahan fungsional dengan sifat imunomodulator positif pada anak-anak. Studi lebih lanjut dapat bertujuan mengevaluasi efek GanedenBC30 pada infeksi terkait kekebalan lainnya atau penyakit metabolik untuk mengeksplorasi dampaknya terhadap kesehatan manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahanchian H, Jones CM, Chen YS, Sly PD. Respiratory viral infections in children with asthma: Do they matter and can we prevent them? *BMC Pediatr.* 2012;12:147.
- Altun, G. K., Erginkaya, Z. 2021. Identification and characterization of *Bacillus coagulans* strains for probiotic activity and safety. *Journal. Cukurova University. Turkey.* https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643821013864?ref=pdf_download&fr=RR-2&rr=71ac26881fee879f.
- Anaya-Loyolaa, M. A., Enciso-Moreno, J. A., López-Ramosb, J. E., García-Marínc, G. Álvarez, M. Y. O., Vega-García, A. M., Mosqueda, J., García-Gutiérrez, D. G., Kellerd, D., Pérez-Ramírez, I. F. 2019. *Bacillus coagulans* GBI-30, 6068 decreases upper respiratory and gastrointestinal tract symptoms in healthy Mexican school-aged children by modulating immune-related proteins. *Journal. Universidad Autónoma de Querétaro. Mexico*
- Azad MB, Kozyrskyj AL. Perinatal programming of asthma: The role of gut microbiota. *Clinical & Developmental Immunol.* 2012;2012:932072.
- Castellazzi AM, Valsecchi C, Caimmi S, Licari A, Marseglia A, Leoni MC, et al. Probiotics and food allergy. *Italian J Pediatr.* 2013;39:47.

- Dotterud CK, Storro O, Johnsen R, Oien T. Probiotics in pregnant women to prevent allergic disease: A randomized, double-blind trial. *Br J Dermatol*. 2010;163(3):616-23.
- Elazab N, Mendy A, Gasana J, Vieira ER, Quizon A, Forno E. Probiotic administration in early life, atopy, and asthma: A meta-analysis of clinical trials. *Pediatrics*. 2013;132(3):666-76.
- Enomoto T, Sowa M, Nishimori K, Shimazu S, Yoshida A, Yamada K, et al. Effects of bifidobacterial supplementation to pregnant women and infants in the prevention of allergy development in infants and on fecal microbiota. *Allergology Internat*. 2014;63(4):575-85.evaluation. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations: World Health Organization; 2006. viii, 50 p. p.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for
- Lin TY, Chen CJ, Chen LK, Wen SH, Jan RH. Effect of probiotics on allergic rhinitis in Df, Dp or dust-sensitive children: A randomized double blind controlled trial. *Indian Pediatr*. 2013;50(2):209-13.
- Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere MF. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol*. 2013;21(4):167-73.
- Meneghin F, Fabiano V, Mameli C, Zuccotti GV. Probiotics and atopic dermatitis in children. *Pharmaceuticals*. 2012;5(7):727-44.
- Pelucchi C, Chatenoud L, Turati F, Galeone C, Moja L, Bach JF, et al. Probiotics supplementation during pregnancy or infancy for the prevention of atopic dermatitis:meta-analysis. *Epidemiology* 2012;23(3):402-14.
- Vael C, Desager K. The importance of the development of the intestinal microbiota in infancy. *Curr Opin Pediatr*. 2009;21(6):794-800.
- Vael C, Vanheirstraeten L, Desager KN, Goossens H. Denaturing gradient gel electrophoresis of neonatal intestinal microbiota in relation to the development of asthma. *BMC Microbiol*. 2011;11:68.
- Vandenplas Y, Huys G, Daube G. Probiotics: An update. *Jornal de pediatria*. 2015;91(1):6-21.
- West CE, D’Vaz N, Prescott SL. Dietary immunomodulatory factors in the development of immune tolerance. *Curr Allerg Asthma Rep*. 2011;11(4):325-33.
- Yap GC, Loo EX, Aw M, Lu Q, Shek LP, Lee BW. Molecular analysis of infant fecal microbiota in an Asian at-risk cohort-correlates with infant and childhood eczema.*BMC Res Notes*. 2014;7:166.
- Yesilova Y, Calka O, Akdeniz N, Berktaş M. Effect of probiotics on the treatment of children with atopic dermatitis. *Ann Dermatol*. 2012;24(2):189-93. da Costa Baptista IP, Accioly E, de Carvalho Padilha P. Effect of the use of probiotics in the treatment of children with atopic dermatitis; A literature review. *Nutricion hospitalaria*. 2013;28(1):16-26.

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
13 Juni 2022	25 Juli 2022	02 Agustus 2022	Ya