



TESIS

Kadar *Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1)* Air Susu Ibu dan *Human Beta Defensin-2 (HBD-2)* Feses Neonatus terhadap Luaran Klinis Neonatus



Oleh:

Bayu Kurniawan
136070100011018

Pembimbing:

Dr. Anik Puryatni, Sp.A(K)

Dr. Hidayat Sujuti, Sp.M, Ph.D

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK

PROGRAM PASCASARJANA FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019



KATA PENGANTAR

Segala puji syukur hanya bagi Allah SWT, atas berkat rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “Kadar *Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1)* Air Susu Ibu dan *Human Beta Defensin-2 (HBD-2)* Feses Neonatus terhadap Luaran Klinis Neonatus” ini dengan baik.

Dengan selesainya penyusunan tesis ini, penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Hidayat Sujuti, Sp.M, Ph.D sebagai Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan anggota komisi pembimbing, yang telah memberikan kesempatan, bimbingan, dan fasilitas bagi penulis untuk menempuh pendidikan.
2. Dr. Eko Sulistijono, Sp.A(K) sebagai Kepala Bagian/ SMF Ilmu Kesehatan Anak Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Saiful Anwar Malang, yang telah memberikan kesempatan, bimbingan, dan fasilitas bagi penulis untuk menyelesaikan tesis.
3. DR. Dr. Krisni Subandiyah, Sp.A(K) sebagai Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Kesehatan Anak (PSPDS-1 IKA) Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, yang telah memberikan kesempatan, bimbingan, dan fasilitas bagi penulis untuk menyelesaikan tesis.
4. Dr. Anik Puryatni, Sp.A(K) sebagai ketua komisi pembimbing yang telah bersedia dengan sabar, meluangkan banyak waktu untuk membimbing dan memberikan saran kepada penulis sehingga tesis ini dapat selesai dengan baik.



5. DR. Dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA sebagai penguji yang telah banyak memberikan arahan, saran, dan koreksi kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik.
6. Dr. Harjoedi Aji Cahyono, Sp.A(K) sebagai penguji yang telah banyak memberikan arahan, saran, dan koreksi kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik.
7. Seluruh staf pengajar Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, atas semua pengetahuan, bimbingan, dorongan, dan nasihat yang telah penulis terima selama proses pendidikan.
8. Seluruh staf pengajar Lab/ SMF Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/ RSUD Dr. Saiful Anwar Malang, atas semua pengetahuan, bimbingan, dorongan, dan nasihat yang telah penulis terima selama proses pendidikan.
9. Orang tua penulis yang sangat kami hormati dan sayangi (Bapak Yudi Kunwinarto dan Almarhumah Ibu Sri Wurjani), yang telah mendidik kami sehingga dapat mewujudkan cita-cita dan pencapaian kami sejauh ini; Bapak Adi Muljo dan Ibu Mudji Lestari Purnamaningsih, yang telah memberikan dukungan, nasehat, dan doa kepada penulis.
10. Yus Indah Purwati, istri kami yang sabar dan mendukung penulis untuk menyelesaikan tesis dan pendidikan. Juno Fadlin Kurniawan dan Julio Fahri Kurniawan, anak-anak kami yang merupakan sumber semangat, harapan, menjadi pendorong dan motivasi penulis.
11. Saudara-saudaraku Angkatan XVII peserta PSPDS-1 IKA FKUB (Centa, Dessy, Eka, Fadil, Ratna, Rusdian, dan Mbak Widhi) yang telah bersama-sama penulis dalam suka duka menempuh pendidikan PSPDS-1 IKA dan Magister Ilmu Biomedik FKUB.



12. Saudara-saudaraku *pedigree* peserta PSPDS-1 IKA FKUB (Mbak Candy, Mbak Tenny, Putri, Mbak Novi, Ofi, Ayu, Richi, Fiona, dan Ardhanis) yang banyak memberikan dukungan dan semangat.

13. Rekan-rekan sejawat peserta PSPDS-1 IKA FKUB yang telah bersama-sama penulis menempuh pendidikan dan membantu baik secara langsung ataupun tidak langsung dalam menyelesaikan penyusunan tesis ini.

14. Dan semua pihak yang telah memberikan bantuan dan saran demi selesainya tesis ini.

Semoga semua bantuan, saran, dan pengorbanan yang diberikan kepada penulis mendapat balasan yang lebih baik dari Allah SWT.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam tesis ini, oleh karena itu penulis mohon saran yang membangun dan bermanfaat untuk perbaikan di masa yang akan datang. Semoga tesis ini dapat memberi manfaat bagi pihak-pihak yang membutuhkan. *Aamiin Ya Rabbal'alamin*.

Malang, Desember 2019

Bayu Kurniawan

RINGKASAN

Bayu Kurniawan, NIM. 136070100011018. Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Desember 2019. Komisi Pembimbing; Ketua: Anik Puryatni; anggota: Hidayat Sujuti.

American Academy of Pediatrics (AAP) merekomendasikan air susu ibu (ASI) lebih superior dibandingkan susu formula untuk pemberian asupan enteral pada neonatus prematur. Kelahiran prematur mempengaruhi $\pm 10\%$ kelahiran hidup di seluruh dunia. Insiden sepsis neonatal terjadi pada 10-40% neonatus prematur (usia kehamilan ibu < 37 minggu), dan bukti klinis menunjukkan bahwa etiologi patogen sepsis neonatal dapat terjadi karena translokasi dari saluran pencernaan neonatus prematur.

Konsumsi air susu ibu (ASI) memberikan kekebalan pasif pada saluran pencernaan neonatus. ASI mengandung zat bioaktif yang melindungi bayi terhadap infeksi, inflamasi, kematangan sistem imun, perkembangan sistem organ, dan kolonisasi flora normal yang mendukung maturitas usus pada neonatus. ASI berkontribusi pada fungsi pertahanan (*barrier*) saluran pencernaan, melalui peran *growth factors*, *antimicrobial protein and peptides* (AMP), dan sitokin. *Growth factors* dalam ASI yang diketahui memiliki peran signifikan pada maturitas usus neonatus adalah *insulin-like growth factor-1* (IGF-1); peptida rantai tunggal yang merupakan stimulator poten untuk mempengaruhi pertumbuhan proliferasi dan hipertrofi. IGF-1 menunjukkan efek protektif selama peradangan dan apoptosis saluran pencernaan neonatus.

Infeksi gastrointestinal merupakan salah satu penyebab kesakitan utama pada neonatus prematur, namun diagnosis definitif sulit ditegakkan. Kondisi klinis serta pemeriksaan penunjang menunjukkan hasil yang relatif sama dengan manifestasi klinis akibat masalah non-gastrointestinal. Upaya yang dapat dilakukan untuk menurunkan morbiditas dan mortalitasnya adalah adanya biomarker non-invasif, yang mampu mendeteksi dini inflamasi saluran pencernaan bahkan sebelum munculnya gejala klinis. Biomarker feses menjadi salah satu pilihan pemeriksaan yang non-invasif dan diharapkan mampu merefleksikan inflamasi serta kondisi patologis spesifik pada intestinal. Peptida yang teridentifikasi pada mekonium dan feses neonatus selama minggu-minggu

pertama kehidupan, salah satunya adalah *human beta defensin*. *Human beta defensin* yang disekresi terutama pada epitel saluran pencernaan dan berhubungan dengan reaksi inflamasi adalah *human beta defensin-2* (HBD-2). HBD-2 memiliki efek protektif selama peradangan dan apoptosis, serta mampu menstimulasi perbaikan epitel saluran pencernaan neonatus.

Penelitian yang membuktikan kadar IGF-1 sebagai *growth factors* pada ASI neonatus prematur pada tahapan laktasi masih terbatas; termasuk penelitian yang membuktikan kadar IGF-1 ASI dengan kadar HBD-2 feses neonatus prematur sebagai biomarker inflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) ASI transisi dan *human beta defensin-2* (HBD-2) feses pada neonatus aterm dan prematur yang mendapatkan asupan ASI.

Dua puluh empat pasangan ibu dan neonatus prematur/ aterm sesuai kriteria inklusi dikumpulkan pada Bulan Juni sampai Agustus 2019 di ruang neonatologi RSUD Dr. Saiful Anwar Malang, dan dikelompokkan menjadi 4 kelompok sampel penelitian (kelompok 37-<42 minggu, 32-<37 minggu, 28-<32 minggu, dan <28 minggu). Karakteristik dasar ibu (usia, indeks massa tubuh, pendidikan, pekerjaan, paritas, perokok aktif, riwayat preeklampsia/ eklampsia, *preterm premature rupture of membrane/ premature rupture of membrane*, korioamnionitis) dan karakteristik dasar neonatus (jenis kelamin, cara lahir, usia kehamilan, berat badan lahir, skor *Apgar*, dan luaran klinis insiden *feeding intolerance*, enterkolitis nekrotikan/ EKN, neonatal sepsis/ *late onset sepsis*, penggunaan ventilasi mekanik) dikumpulkan. Kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses neonatus diambil dari 4 kelompok sampel dan diukur dengan metode ELISA. Uji komparatif perbedaan rerata (*mean*) kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses neonatus dari tiap-tiap kelompok sampel dilakukan dengan uji ANOVA. Analisis korelasi kadar IGF-1 ASI transisi dengan HBD-2 feses neonatus dilakukan uji Korelasi *Pearson*.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan bermakna rerata (*mean*) kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses neonatus dari tiap-tiap kelompok sampel penelitian ($p < 0,05$); kadar IGF-1 ASI transisi berbanding lurus dengan usia kehamilan ($r = 0,611$) dan sebaliknya kadar HBD-2 feses neonatus terhadap usia kehamilan ($r = -0,725$) ($p < 0,05$). Tidak terdapat korelasi yang signifikan antara kadar IGF-1 ASI transisi dengan HBD-2 feses neonatus ($r = 0,338$; $p = 0,106$). Terdapat perbedaan kadar HBD-2 feses neonatus yang



bermakna pada neonatus dengan *feeding intolerance*, enterokolitis nekrotikan, dan penggunaan ventilasi mekanik ($p < 0.05$).

Disimpulkan bahwa prematuritas menunjukkan kadar IGF-1 ASI transisi yang rendah dan peningkatan kadar HBD-2 feses neonatus, sehingga meningkatkan risiko infeksi saluran pencernaan. Dan peran potensial HBD-2 feses sebagai biomarker inflamasi saluran pencernaan neonatus dapat dibuktikan.

Kata kunci: Air Susu Ibu (ASI), *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1), *Human Beta Defensin-2* (HBD-2), Neonatus.

SUMMARY

Bayu Kurniawan, ID. 136070100011018. Postgraduate Program in Master of Biomedical Sciences, Medical Faculty of University Brawijaya Malang, December 2019. Advisor committee; chairman: Anik Puryatni; member: Hidayat Sujuti.

The American Academy of Pediatrics (AAP) recommends human milk is superior to cow milk for enteral feeding in preterm neonates. Preterm birth affects $\pm 10\%$ of live births worldwide. The incidence of neonatal sepsis occurs in 10-40% of preterm neonates (gestational age < 37 weeks), and clinical evidence suggests that the etiology of pathogen neonatal sepsis may occur due to bacterial translocation of the preterm neonatal gastrointestinal tract.

Human milk consumption provides passive immunity to the neonatal digestive tract. Human milk contains bioactive substances that protect infants against infection, inflammation, immune system maturity, organ system development, and normal flora colonization that support intestinal maturity in neonates. Human milk contributes to the functioning of the barrier of the gastrointestinal tract, through the role of growth factors, antimicrobial protein peptide (AMP), and cytokines. Growth factors in human milk that is known to have a significant role in the maturity of the neonate intestine is Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1); a single chain peptide with a potent stimulator to affect proliferative and hypertrophic growth. IGF-1 exhibits protective effects during inflammation and neonatal gastrointestinal apoptosis.

Necrotizing enterocolitis is one of the main causes of morbidity in preterm neonates, but definitive diagnosis is still difficult. Clinical conditions and investigations show relatively similar results with clinical manifestations due to non-gastrointestinal problems. Efforts that can be made to reduce morbidity and mortality are the presence of non-invasive biomarkers, which are able to detect early inflammation of the digestive tract, even before clinical symptoms revealed. Stool biomarkers are one of the non-invasive screening options and are expected to reflect inflammation and specific intestinal pathological conditions. Peptides are identified in meconium and neonatal faeces during the first weeks of life, one of which is human beta defensins. Human beta defensins secreted mainly in the epithelium of the digestive tract and associated with inflammatory reactions is human beta defensins-2 (HBD-2). HBD-2 has a protective effect during



inflammation and apoptosis, and is able to stimulate the improvement of the neonatal digestive tract epithelium.

Research proves IGF-1 levels as growth factors from human mother milk of preterm neonates at different stages of lactation is limited; including studies that prove the pattern of IGF-1 levels of human milk with fecal HBD-2 level from preterm neonates as an inflammation biomarker. The aim of this study was to determine the pattern of IGF-1 level from transition human milk and fecal HBD-2 level in term and preterm neonates who received human milk intake.

Twenty four pairs of mothers-preterm or atterm neonates according to the inclusion criteria were collected in June to August 2019 in the neonatology ward of Dr. Saiful Anwar Malang general hospital, and grouped into 4 groups of research samples (group of gestational age 37-<42 weeks, 32-<37 weeks, 28-<32 weeks, and <28 weeks). Basic maternal characteristics (age, body mass index, education, occupation, parity, active smoker, history of preeclampsia/eclampsia, preterm premature rupture of membrane/ premature rupture of membrane, chorioamnionitis) and basic neonatal characteristics (sex, gestational age, birth weight, Apgar score, and clinical outcome of feeding intolerance, necrotizing enterocolitis, neonatal sepsis, mechanical ventilation use) were collected. IGF-1 levels of transition human milk and fecal HBD-2 level were taken from 4 groups of samples and measured by ELISA method. Comparative mean difference test of IGF-1 levels of transition human milk and fecal HBD-2 from each sample group was calculated by ANOVA test. The correlation analysis of IGF-1 levels of transition human milk with fecal HBD-2 was calculated by Pearson Correlation test.

The results showed there were significant mean differences of IGF-1 transition human milk and fecal HBD-2 from each group of study samples ($p < 0.05$); IGF-1 levels of transition human milk is directly proportional to gestational age ($r = 0.611$) and vice versa fecal HBD-2 levels towards gestational age ($r = -0.725$) ($p < 0.05$). There was no significant correlation between IGF-1 levels of transition human milk and fecal HBD-2 of neonates ($r = -0.338$; $p = 0.106$). There were significant differences of stool HBD-2 levels in neonates by feeding intolerance, necrotizing enterocolitis, and the use of mechanical ventilation ($p < 0.05$).

It was concluded that prematurity showed low levels of transitional IGF-1 human milk and increased faecal HBD-2 levels, thereby increasing the risk of



gastrointestinal infections. And the potential role of faecal HBD-2 level as an inflammatory biomarker is suggested.

Keywords: Human Milk, Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1), Human Beta Defensin-2 (HBD-2), Neonates.



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL

KATA PENGANTAR

RINGKASAN

SUMMARY

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL

DAFTAR GAMBAR

DAFTAR LAMPIRAN

DAFTAR SINGKATAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Rumusan masalah umum

1.2.2 Rumusan sub masalah

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

1.3.2 Tujuan khusus

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Dalam bidang ilmu pengetahuan

1.4.2 Dalam bidang pelayanan kesehatan

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Air Susu Ibu

2.1.1 Definisi

2.1.2 Tahapan pembentukan Air Susu Ibu

2.1.2.1 Mammogenesis

2.1.2.2	Laktogenesis	12
2.1.2.2.1	Laktogenesis I	12
2.1.2.2.2	Laktogenesis II	14
2.1.2.2.3	Laktogenesis III	16
2.1.2.3	Involusi	17
2.1.3	Tipe Air Susu Ibu	17
2.1.3.1	ASI kolostrum	17
2.1.3.2	ASI transisi	18
2.1.3.3	ASI matur	18
2.1.4	Komposisi Air Susu Ibu	19
2.1.4.1	<i>Growth Factors</i>	20
2.1.4.2	<i>Antimicrobial Protein and Peptides (AMP)</i>	22
2.1.4.3	<i>Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA)</i>	22
2.1.4.4	Imunoglobulin	23
2.1.4.5	Probiotik	23
2.1.5	Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi ASI	23
2.1.5.1	Faktor maternal	23
2.1.5.2	Faktor neonatal	24
2.1.6	Air susu ibu sebagai salah satu strategi pencegahan inflamasi saluran pencernaan pada neonatus	24
2.1.7	Air susu ibu pada neonatus prematur	26
2.2	<i>Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1)</i>	28
2.2.1	IGF-1 dan <i>IGF-Binding Proteins</i>	28
2.2.2	IGF-1 pada air susu ibu	30
2.2.3	Peran <i>insulin-like growth factor-1 (IGF-1)</i> pada inflamasi saluran pencernaan neonatus	31
2.3	Neonatus	36

2.3.1 Definisi	36
2.3.2 Klasifikasi neonatus	37
2.3.3 Anatomi dan fisiologi usus neonatus	37
2.3.3.1 Menelan cairan ketuban	38
2.3.3.2 Tonus spinkter gastroesofageal	38
2.3.3.3 Motilitas usus	39
2.3.3.4 Pencernaan karbohidrat, lemak, dan protein	39
2.3.3.5 Pertahanan epitel	41
2.3.3.6 Imaturitas usus	42
2.3.3.7 Kolonisasi mikroba	43
2.3.4 Patofisiologi neonatus prematur	44
2.3.4.1 Ketidakstabilan suhu	46
2.3.4.2 Sistem pernapasan	46
2.3.4.3 Sistem neurologis	46
2.3.4.4 Sistem kardiovaskular	47
2.3.4.5 Sistem hematologi	47
2.3.4.6 Sistem gastrointestinal	48
2.3.4.7 Masalah metabolik	48
2.3.4.8 Sistem genitourinarius	48
2.3.4.9 Sistem imunologi saluran pencernaan	48
2.4 <i>Human Beta Defensin-2 (HBD-2)</i>	51
2.4.1 Definisi <i>defensin</i>	51
2.4.2 Fungsi <i>human defensin</i>	53
2.4.3 <i>Human beta defensin-2</i> pada inflamasi saluran pencernaan neonatus	55
2.4.4 <i>Human beta defensin-2</i> sebagai biomarker feses	61
2.5 Kerangka Teori	65



BAB 3 KERANGKA KONSEP	66
3.1 Kerangka Konsep	66
3.2 Hipotesis Penelitian	70
BAB 4 METODE PENELITIAN	71
4.1 Desain Penelitian	71
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	71
4.3 Populasi dan Sampel Penelitian	71
4.3.1 Estimasi besar sampel	72
4.3.2 Kriteria inklusi sampel penelitian	72
4.3.3 Kriteria eksklusi sampel penelitian	73
4.4 Variabel Penelitian	73
4.4.1 Variabel bebas	73
4.4.2 Variabel tergantung	73
4.5 Kelayakan Etik	73
4.6 Definisi Operasional	74
4.6.1 Neonatus aterm	74
4.6.2 Neonatus prematur	74
4.6.3 Air susu ibu (ASI)	74
4.6.4 <i>Insulin-like growth factor-1</i> (IGF-1) ASI	74
4.6.5 <i>Human beta defensin-2</i> (HBD-2) feses	74
4.7 Alat dan Bahan	75
4.7.1 Alat	75
4.7.2 Bahan	75
4.8 Metode	75
4.8.1 Pengambilan sampel ASI	75
4.8.2 Prinsip pemeriksaan kadar <i>insulin-like growth factor-1</i> (IGF-1) air susu ibu (ASI) dengan ELISA	76



4.8.3 Pengambilan sampel feses	77
4.8.4 Prinsip pemeriksaan kadar <i>human beta defensin-2</i> (HBD-2) feses dengan ELISA	77
4.9 Teknik Analisis Statistik	78
4.10 Alur Penelitian	79
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL	80
5.1 Karakteristik sampel penelitian	80
5.2 Hasil uji syarat parametrik	83
5.3 Uji komparatif kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses	84
5.4 Uji korelasi kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses neonatus dengan usia kehamilan ibu	87
5.5 Uji korelasi kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses neonatus	87
5.6 Uji komparatif kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses dengan luaran klinis neonatus	88
BAB 6 PEMBAHASAN	89
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN	98
7.1 Simpulan	98
7.2 Saran	99
DAFTAR PUSTAKA	101
LAMPIRAN	123



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komponen penting ASI	20
Tabel 2.2 Perbedaan kandungan ASI pada neonatus prematur dan aterm	27
Tabel 2.3 Keuntungan pemberian ASI pada neonatus prematur	28
Tabel 2.4 Berbagai tipe sel epitel dalam usus halus	38
Tabel 2.5 Beberapa patogen yang berhubungan dengan terjadinya EKN pada neonatus	44
Tabel 2.6 Imaturitas <i>barrier</i> intestinal pada neonatus prematur	50
Tabel 2.7 Distribusi dan sumber <i>beta defensin</i>	52
Tabel 5.1 Karakteristik sampel penelitian	81
Tabel 5.2 Hasil uji normalitas kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses	83
Tabel 5.3 Hasil uji <i>independent t-test</i> kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses pada neonatus aterm dan prematur	84
Tabel 5.4 Hasil uji <i>one-way</i> ANOVA kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses	86
Tabel 5.5 Korelasi kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses neonatus	87
Tabel 5.6 Korelasi kadar IGF-1 ASI dan HBD-2 feses	87
Tabel 5.7 Hasil uji komparatif kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses terhadap luaran klinis neonatus	88



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Gambar skematik potongan melintang sel myoepitelial	10
Gambar 2.2 Kadar hormon dalam plasma selama kehamilan	13
Gambar 2.3 Preparasi hormon laktasi pasca persalinan	15
Gambar 2.4 Beberapa kemungkinan intervensi terapi pada mekanisme molekul yang menginduksi EKN	26
Gambar 2.5 Respon imun <i>innate</i> pada Enterkolitis Nekrotikan	34
Gambar 2.6 Jalur Transduksi Insulin, IGF-1, dan IGF-2	35
Gambar 2.7 Peranan TLR4 dalam perlukaan epitel dan mekanisme penyembuhan	42
Gambar 2.8 Peptida anti mikroba (AMP)	53
Gambar 2.9 Fungsi defensin dalam saluran pencernaan	54
Gambar 2.10 Peran penting <i>Toll-like receptor</i> (TLR) dalam inflamasi mukosa gastrointestinal	56
Gambar 2.11 Gambaran skematik mekanisme <i>beta defensin</i> menginduksi <i>microbial killing</i>	60
Gambar 2.12 Potensi penggunaan berbagai biomarker feses	64
Gambar 5.1 <i>Mean</i> kadar IGF-1 ASI transisi	85
Gambar 5.2 <i>Mean</i> kadar HBD-2 feses	85



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Statistik	123
Lampiran 2. Keterangan Kelaikan Etik	128
Lampiran 3. Pernyataan Persetujuan Untuk Berpartisipasi Dalam Penelitian	129



DAFTAR SINGKATAN

AAP	: American Academy of Pediatrics
ACOG	: American College of Obstetrician and Gynecologist
Akt	: Ak Transforming
ALS	: Acid-labile Subunit
AMP	: Antimicrobial protein and peptides
ANOVA	: Analysis of Variance
ARA	: Arachidonid Acid
ASI	: Air Susu Ibu
BBLASR	: Bayi Berat Lahir Amat Sangat Rendah
BBLR	: Bayi Berat Lahir Rendah
BBLSR	: Bayi Berat Lahir Sangat Rendah
DAMPs	: Damage-associated molecular patterns
DBM	: Drip Breast Milk
DHA	: Docosahexaenoic Acid
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
E1	: Estrone
E2	: Estradiol
E3	: Estriol
EBM	: Expressed breast milk
EGF	: Epidermal Growth Factor
EKN	: Enterokolitis nekrotikan
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
Epo	: Erythropoietin
ErK	: Extracellular signal-related kinase
g	: Gram
GSK3 β	: Glycogen synthase kinase-3 β
HBD-1/2/3	: Human Beta Defensin-1/2/3
HB-EGF	: Heparin Binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor
hCG	: Human Chorionic Gonadotropin
HNP-1/2/3	: Human Neutrofil Peptide-1/2/3
HPL	: Human Placental Lactogen
Ht	: Hematokrit
Ig	: Immunoglobulin
IGF	: Insulin-like Growth Factor
IGFBP	: Insulin-like Growth Factor Binding Protein
IGF-1/2	: Insulin-like Growth Factor-1/2
IGF-1/2R	: IGF-1/2 Receptor
IL	: Interleukin
IRS	: Insulin receptor substrate
IUGR	: Intrauterine Growth Retardation
kDa	: Kilo Dalton
Kg	: Kilogram



Kkal	: Kilo Kalori
KPD	: Ketuban pecah dini
LC-PUFA	: <i>Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids</i>
LPS	: Lipopolisakarida
M6P	: <i>Mannose-6-Phosphate receptor</i>
ml	: mililiter
mOsm	: <i>Miliosmoles</i>
mTOR	: <i>mammalian TOR</i>
NCB	: Neonatus Cukup Bulan
NEC	: <i>Necrotizing Enterocolitis</i>
NF-kB	: <i>Nuclear Factor kappa B</i>
NGF	: <i>Neuronal Growth Factors</i>
NGT	: <i>Nasogastric Tube</i>
NICU	: <i>Neonatal Intensive Care Unit</i>
NCB	: Neonatus Cukup Bulan
NKB	: Neonatus Kurang Bulan
NO	: <i>Nitrit Oxide</i>
OPG	: Osteoprotegerin
PAF	: <i>Platelet Activating Factor</i>
PAMP	: <i>Pathogen associated molecular pattern</i>
PASI	: Pengganti Air Susu Ibu
PC	: <i>Paneth cell</i>
pH	: <i>Potential of Hydrogen</i>
PI3-K	: <i>Phosphatidylinositol 3-kinase</i>
PIF	: <i>Prolactin-inhibitory Factor</i>
PJB	: Penyakit Jantung Bawaan
PRR	: <i>Pattern Recognition Receptors</i>
PTH	: <i>Parathyroid Hormone</i>
PUFA	: <i>Polyunsaturated Fatty Acid</i>
Ras	: <i>Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog</i>
RDA	: <i>Recommended Dietary Allowance</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
Shc	: <i>Src Homology 2 domain-containing</i>
SigA	: <i>Secretory Immunoglobulin A</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TANEC	: <i>Tranfusion Associated Necrotizing Enterocolitis</i>
TGF	: <i>Transforming Growth Factor</i>
TLR	: <i>Toll-like Receptor</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TOR	: <i>Target of Rapamycin</i>
TPN	: <i>Total Parenteral Nutrition</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Air susu ibu (ASI) adalah satu-satunya makanan bayi yang paling baik, karena mengandung zat gizi yang paling sesuai dengan kebutuhan bayi yang sedang dalam tahap percepatan tumbuh kembang, termasuk kebutuhan nutrisi pada neonatus prematur (Sanyoto & Eveline, 2008). *American Academy of Pediatrics* (AAP) merekomendasikan ASI lebih superior dibandingkan susu formula untuk pemberian asupan enteral pada neonatus prematur (AAP, 2012). Keuntungan pemberian ASI yang dikutip dari AAP adalah berkurangnya angka kejadian enterokolitis nekrotikan (EKN), sepsis, mortalitas, meningkatkan toleransi pemberian makan, pencapaian awal pemberian makanan enteral secara penuh, pertumbuhan dan perkembangan susunan saraf dalam jangka panjang yang lebih baik (AAP, 2012; Denning & Maheshwari, 2013).

Kelahiran prematur adalah isu global yang signifikan, mempengaruhi satu dari sepuluh kelahiran hidup di seluruh dunia (WHO, 2012). Sepsis neonatal banyak terjadi pada neonatus prematur, prevalensi sepsis neonatal meningkat dari 2% pada neonatus dengan usia kehamilan 32 sampai <37 minggu (*moderately preterm infants*), sampai 10-20% pada neonatus dengan usia kehamilan 28 sampai 32 minggu (*very preterm infants*), dan 30-40% pada neonatus dengan usia kehamilan <28 minggu (*extremely preterm infants*) (Spearman, Camacho-Gonzalez & Stoll, 2013). Bukti klinis menunjukkan bahwa etiologi patogen sepsis neonatal dapat terjadi karena translokasi bakteri dari saluran pencernaan neonatus prematur (Soeorg *et al.*, 2013).



Konsumsi ASI memberikan kekebalan pasif pada saluran pencernaan neonatus melalui sejumlah besar faktor kekebalan tubuh yang terkandung. ASI mengandung beberapa jenis komponen biologis aktif, yang berfungsi memberikan nutrisi dan membantu maturasi saluran pencernaan neonatus. ASI juga mengandung zat bioaktif yang melindungi bayi terhadap infeksi, inflamasi, dan berkontribusi pada kematangan sistem imun, perkembangan sistem organ, dan kolonisasi flora normal yang mendukung maturitas usus pada neonatus, karena ASI berkontribusi pada fungsi pertahanan (*barrier*) saluran pencernaan, melalui peran *growth factors* dan sitokin (Sullivan *et al.*, 2010; Walker 2010). Tidak semua neonatus prematur yang mendapatkan ASI dalam jumlah cukup terlindungi dari sepsis. Beberapa penelitian sebelumnya, menunjukkan kelangsungan hidup patogen yang menyebabkan sepsis dipengaruhi secara berbeda oleh kadar protein anti mikroba pada ASI (Trend *et al.*, 2016), dan korelasi antara usia kehamilan dengan kadar *antimicrobial protein and peptides* (AMP) (Strunk *et al.*, 2009). Hal ini menimbulkan pertanyaan apakah ASI dari ibu dengan neonatus prematur memiliki kadar *growth factors*, AMP, dan sitokin yang lebih rendah dibandingkan dengan ASI dari ibu dengan neonatus aterm, sehingga berkontribusi terhadap peningkatan risiko sepsis pada populasi neonatus prematur?

Komposisi protein, faktor imunitas, *growth factors*, AMPS, dan sitokin pada ASI bervariasi dan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti usia ibu, cara persalinan, fase laktasi, volume susu yang dihasilkan, merokok, indeks massa tubuh, paritas, dan infeksi ibu. Banyak dari parameter maternal ini juga merupakan faktor risiko yang terkait dengan kelahiran prematur (Goldenberg *et al.*, 2008), dan hubungan antara kelahiran prematur dan komposisi ASI membutuhkan penelitian lebih lanjut (Bishara *et al.*, 2009; Bachour *et al.*, 2012; Hassiotou *et al.*, 2013; Dizdar *et al.*, 2014).



ASI mengandung sejumlah peptida biologis aktif termasuk *growth factors* dalam jumlah bermakna, yang memiliki efek biologis terhadap saluran pencernaan, pembuluh darah, susunan saraf, dan sistem endokrin. *Growth factors* dalam ASI yang sampai saat ini belum didapatkan hasil penelitian terperinci pada neonatus prematur, tetapi diketahui memiliki peran signifikan pada maturitas usus neonatus adalah *insulin-like growth factor-1* (IGF-1). IGF-1 adalah peptida rantai tunggal dengan berat molekul 7,5 kDa, yang merupakan stimulator poten untuk mempengaruhi pertumbuhan proliferasi baik dengan menginduksi mitosis, dan pertumbuhan hipertrofik dengan merangsang proses anabolik seperti transportasi glukosa, *uptake* asam amino, dan sintesis protein (Sara & Hall 1990). IGF-1 memiliki peranan penting dalam kelangsungan hidup neonatus prematur; pada neonatus prematur yang memiliki kadar IGF-1 serum rendah, didapatkan peningkatan risiko retinopati prematuritas dan EKN (Ballard & Morrow, 2013).

Enterokolitis nekrotikan merupakan salah satu penyebab kesakitan utama pada neonatus prematur, namun diagnosis definitif untuk menegakkan infeksi tersebut merupakan hal yang sulit, oleh karena kondisi klinis serta pemeriksaan penunjang menunjukkan hasil yang relatif sama dengan manifestasi klinis akibat masalah non- gastrointestinal (Avula *et al.*, 2017). Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk menurunkan angka morbiditas dan mortalitas akibat infeksi saluran pencernaan yakni adanya biomarker non-invasif, yang mampu mendeteksi dini inflamasi saluran pencernaan bahkan sebelum munculnya gejala klinis. Biomarker feses menjadi salah satu pilihan pemeriksaan yang non-invasif dan diharapkan mampu merefleksikan inflamasi serta kondisi patologis spesifik pada intestinal (Campeotto *et al.*, 2010; Pang *et al.*, 2014).

Beberapa peptida teridentifikasi pada mekonium dan feses neonatus selama minggu-minggu pertama kehidupan, salah satunya *human beta defensin*



(Campeotto *et al.*, 2010). *Human beta defensin* merupakan pertahanan lini pertama dalam melawan infeksi, defensin yang disekresi pada epitel terutama saluran pencernaan, berhubungan dengan reaksi inflamasi yakni *human beta defensin-2* (HBD-2). HBD-2 memiliki efek protektif selama peradangan dan apoptosis, serta mampu menstimulasi perbaikan epitel saluran pencernaan (Otte *et al.*, 2008).

Penelitian kadar HBD-2 feses pada neonatus prematur dihubungkan dengan riwayat pemberian nutrisi enteral masih terdapat hasil yang bertentangan, Avula *et al.*, 2017 menunjukkan bahwa HBD-2 feses tereksresi rendah pada inflamasi gastrointestinal berat, sebagai akibat respon imunitas yang tidak adekuat terhadap bakteri luminal. Penelitian lain menunjukkan peningkatan HBD-2 pada mukosa kolon yang mengalami inflamasi (Campeotto *et al.*, 2010; Pang *et al.*, 2014). Corebima *et al.*, 2019 membuktikan HBD-2 feses mampu merefleksikan kejadian inflamasi intestinal pada neonatus prematur yang mengonsumsi ASI maupun susu formula di usia empat belas hari. HBD-2 sangat mudah diukur dan selalu terdeteksi pada feses bayi baru lahir serta menunjukkan pertahanan dalam minggu-minggu pertama kehidupan.

Beberapa penelitian telah menyelidiki perbedaan antara sampel ASI neonatus aterm dan prematur, yang diambil dalam bulan pertama pasca persalinan, termasuk tingkat *antimicrobial proteins and peptides* (AMP), *soluble pattern recognition receptors* (PRR), *growth factors*, dan sitokin terlarut (Mehta & Petrova, 2011; Broadhurst *et al.*, 2015). Penelitian yang membuktikan kadar IGF-1 sebagai *growth factors* pada ASI neonatus prematur pada tahapan laktasi masih terbatas; termasuk penelitian yang mengkaji kadar IGF-1 ASI dari ibu dengan neonatus prematur yang mendapatkan asupan ASI, dengan kadar HBD-2 feses neonatus sebagai biomarker inflamasi non-invasif. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui kadar *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) ASI transisi



dan kadar *human beta defensin-2* (HBD-2) feses neonatus terhadap luaran klinis neonatus.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Rumusan masalah umum

Apakah terdapat perbedaan kadar IGF-1 ASI transisi dengan kadar HBD-2 feses pada neonatus aterm dan neonatus prematur yang mendapatkan asupan ASI terhadap luaran klinis neonatus?

1.2.2 Rumusan sub masalah

1. Apakah terdapat perbedaan kadar IGF-1 ASI transisi dari ibu dengan neonatus aterm dan neonatus prematur (*extremely preterm, very preterm, mild preterm*)?
2. Apakah terdapat korelasi antara kadar IGF-1 ASI transisi dengan usia kehamilan ibu?
3. Apakah terdapat perbedaan kadar IGF-1 ASI transisi terhadap luaran klinis neonatus?
4. Apakah terdapat perbedaan kadar HBD-2 feses neonatus aterm dan neonatus prematur (*extremely preterm, very preterm, mild preterm*)?
5. Apakah terdapat korelasi antara kadar HBD-2 feses neonatus dengan usia kehamilan ibu?
6. Apakah terdapat perbedaan kadar HBD-2 feses neonatus terhadap luaran klinis neonatus?
7. Apakah terdapat korelasi antara kadar IGF-1 ASI transisi dengan HBD-2 feses neonatus aterm dan neonatus prematur (*extremely preterm, very preterm, mild preterm*)?



1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Membuktikan adanya perbedaan kadar IGF-1 ASI transisi dengan kadar HBD-2 feses pada neonatus aterm dan neonatus prematur yang mendapatkan asupan ASI terhadap luaran klinis neonatus.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan adanya perbedaan kadar IGF-1 ASI transisi dari ibu dengan neonatus aterm dan neonatus prematur (*extremely preterm, very preterm, mild preterm*).
2. Membuktikan adanya korelasi antara kadar IGF-1 ASI transisi dengan usia kehamilan ibu.
3. Membuktikan adanya perbedaan kadar IGF-1 ASI transisi terhadap luaran klinis neonatus.
4. Membuktikan adanya perbedaan kadar HBD-2 feses neonatus aterm dan neonatus prematur (*extremely preterm, very preterm, mild preterm*).
5. Membuktikan adanya korelasi antara kadar HBD-2 feses neonatus dengan usia kehamilan ibu.
6. Membuktikan adanya perbedaan kadar HBD-2 feses neonatus terhadap luaran klinis neonatus.
7. Membuktikan adanya korelasi antara kadar IGF-1 ASI transisi dengan HBD-2 feses neonatus aterm dan neonatus prematur (*extremely preterm, very preterm, mild preterm*).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Dalam bidang ilmu pengetahuan

Temuan ini untuk mengetahui perbedaan dan korelasi antara kadar IGF-1 ASI dengan kadar HBD-2 feses pada neonatus aterm dan prematur;



HBD-2 sebagai biomarker inflamasi non-invasif, sehingga dapat diketahui pengaruhnya terhadap risiko inflamasi lokal saluran pencernaan, khususnya pada neonatus prematur.

1.4.2 Dalam bidang pelayanan kesehatan

Temuan ini diharapkan dapat membuktikan manfaat pemberian ASI eksklusif pada neonatus khususnya neonatus prematur, sehingga menunjang data ilmiah dalam upaya pencegahan inflamasi dan infeksi lokal pada saluran pencernaan, yang diharapkan dapat mengurangi angka morbiditas dan mortalitas neonatus prematur.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Air Susu Ibu

2.1.1 Definisi

Air susu ibu (ASI) adalah satu-satunya makanan bayi yang paling baik, karena mengandung zat gizi yang paling sesuai dengan kebutuhan bayi yang sedang dalam tahap percepatan tumbuh kembang (Sanyoto & Eveline, 2008).

ASI adalah suatu emulsi lemak dalam larutan protein, laktosa dan garam-garam organik yang disekresi oleh kedua belah kelenjar dari payudara yang berguna sebagai makanan bayi. ASI mengandung berbagai zat gizi yang dibutuhkan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan bayi. Komposisi ASI yang unik dan spesifik tidak dapat diimbangi oleh susu formula. Pemberian ASI tidak hanya bermanfaat bagi bayi tetapi juga bagi ibu yang menyusui. Dengan diberikan ASI berarti bayi sudah mendapatkan imunoglobulin (zat kekebalan atau daya tahan tubuh) dari ibunya melalui plasenta, tetapi kadar zat tersebut dengan cepat akan menurun segera setelah kelahirannya (IDAI, 2015). Bayi baru lahir akan memproduksi sendiri imunoglobulin secara cukup saat mencapai usia sekitar 4 bulan. Pada saat kadar imunoglobulin bawaan dari ibu menurun yang dibentuk sendiri oleh tubuh bayi belum mencukupi, terjadilah suatu periode kesenjangan imunoglobulin pada bayi. Selain itu, ASI merangsang terbentuknya antibodi bayi lebih cepat. Jadi, ASI tidak saja bersifat imunisasi pasif, tetapi juga aktif. Beberapa hasil penelitian menunjukkan ASI menurunkan insiden infeksi neonatal (AAP, 2012).

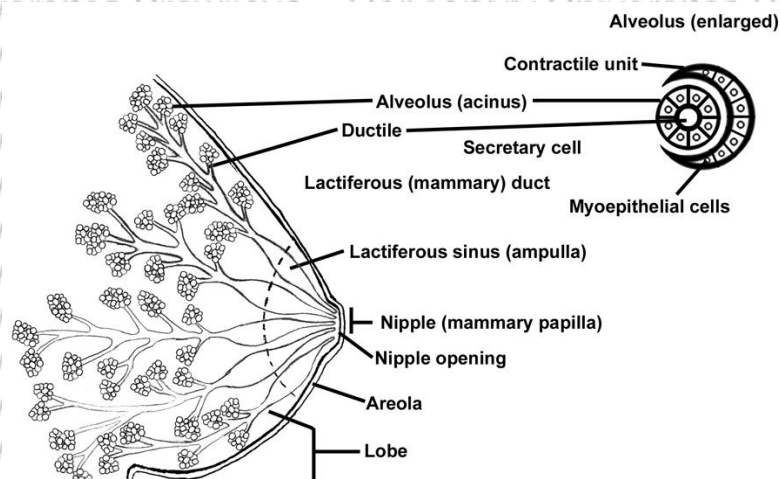


2.1.2 Tahapan pembentukan air susu ibu

Tahapan pembentukan ASI diawali dengan tahapan pertumbuhan dan perkembangan payudara ibu. Kelenjar *mammæ* pada payudara manusia adalah kelenjar yang tidak sepenuhnya berkembang saat lahir. Kelenjar ini mengalami perubahan dramatis dalam ukuran, bentuk, dan fungsi sejak periode fetal, kelahiran, menyusui, dan akhirnya involusi. Kelenjar *mammæ* pada payudara manusia mengalami tiga tahap utama pertumbuhan dan perkembangan sebelum kehamilan dan menyusui: intra uterin, 2 tahun pertama kehidupan, dan saat pubertas. Tiga tahapan pertumbuhan dan perkembangan kelenjar *mammæ* pada payudara manusia adalah *mammogenesis*, *laktogenesis*, dan *involusi* (Lawrence, 2011).

2.1.2.1 Mammogenesis

Payudara mulai berkembang dalam kandungan, menjalani perubahan perkembangan pertama yang diperlukan agar menyusui tepat terjadi. Kuncup susu berbentuk bohlam dapat ditemukan pada janin pada usia kehamilan 18-19 minggu. Di dalam tunas, sistem duktus *mammæ* dasar terbentuk, yang hadir saat lahir. Setelah lahir, pertumbuhan kelenjar *mammæ* sejajar dengan pertumbuhan anak sampai pubertas. Anatomi normal kelenjar *mammæ* setelah perkembangan pubertas ditunjukkan pada gambar 2.1. Unit dasar kelenjar *mammæ* adalah sel alveolus atau asinus yang terhubung ke saluran duktus. Setiap duktus secara independen mengalir ke salurannya; sinus laktiferus. Sinus laktiferus ini menyuplai 15-25 *ductile* di puting susu, memungkinkan susu mengalir ke bayi penerima (Lawrence, 2011; Hassiotou & Geddes, 2012).



Gambar 2.1 Gambar skematik potongan melintang sel myoepitelial. Sel-sel myoepitelial berkontraksi untuk mensekresikan ASI.

Dikutip dari: Hassiotou & Geddes, 2012.

Diameter duktus meningkat pada beberapa titik cabang, jumlah rata-rata duktus dan diameter duktus utama tidak berhubungan dengan diameter puting, diameter areola, atau produksi ASI untuk masing-masing payudara individu.

Distribusi jaringan adiposa dan kelenjar berbeda-beda di kalangan wanita tapi tidak di antara payudara. Selain itu, proporsi jaringan kelenjar, lemak, jumlah dan ukuran saluran tidak terkait dengan produksi susu (Hassiotou & Geddes, 2012).

Kelenjar hipofise memiliki peran penting pada pertumbuhan payudara. Kleinberg telah mengidentifikasi peran hormon pertumbuhan (*growth hormone/ GH*) yang penting dalam perkembangan pubertal dan pertumbuhan *terminal end buds* pada jaringan payudara wanita. Prolaktin tidak dapat menggantikan peran GH dalam penelitian ini, tetapi hormon *Insulin-like growth factor-1* (IGF-1) dapat menggantikan peran prolaktin. IGF-1 diproduksi oleh kompartemen stromal kelenjar payudara, produksinya distimulasi oleh GH dan estradiol yang dihasilkan ovarium. IGF-1 penting pada pertumbuhan dan perkembangan duktus payudara pubertal (Kleinberg, 1997).



Pada masa pubertas, estrogen yang dilepas merangsang jaringan payudara untuk membesar melalui pertumbuhan duktus. Progesteron, yang disekresi pada paruh kedua siklus menstruasi, menyebabkan perkembangan lobuloalveolar yang terbatas. Efek estrogen dan progesteron memfasilitasi pembentukan struktur karakteristik dari payudara dewasa, yang merupakan unit lobular terminal duktus. Namun, perkembangan alveolar dan pematangan epitel penuh pada payudara dewasa memerlukan pengaruh hormon kehamilan (Lawrence, 2011).

Pengaruh hormon kehamilan pada payudara menyebabkan perubahan besar selama kehamilan. Pada awal kehamilan, terjadi peningkatan bermakna (*sprouting*) pembentukan duktus, *branching*, dan lobular yang disebabkan oleh pengaruh hormon luteal dan plasenta. HPL, prolaktin, dan gonadotropin korionik telah diidentifikasi sebagai kontributor percepatan pertumbuhan payudara.

Sprouting ductular dichorionic telah dikaitkan dengan estrogen dan pembentukan lobular dikaitkan dengan progesteron (Lawrence, 2011; Hassiotou & Geddes, 2012).

Prolaktin penting untuk pengembangan kelenjar lobular-alveolar. Pertumbuhan hampir sempurna dari sistem lobular-alveolar *mammæ* diperoleh secara eksperimental pada tikus yang dilakukan hipofisektomi-adrenalektomi, jika hewan tersebut menerima estrogen, progesteron, dan prolaktin. Prolaktin, seperti hormon protein lainnya, memberikan efeknya melalui ikatan dengan reseptor untuk inisiasi sekresi ASI pada permukaan sel alveolar. Induksi sintesis susu memerlukan pembelahan sel yang diinduksi insulin dan kortisol. Prolaktin disekresikan oleh hipofisis, yang dikontrol secara negatif oleh *prolactin-inhibitory factor* (PIF) dari hipotalamus (Kwa *et al.*, 1989).

Pada usia kehamilan 3 bulan, sekresi substrat penyusun kolostrum terkumpul pada *acini*. Prolaktin yang dihasilkan kelenjar hipofise anterior



menstimulasi produksi kolostrum oleh glandular. Pada trisemester kedua, prolaktin menstimulasi sekresi kolostrum. Ibu hamil yang mengalami persalinan pada usia kehamilan 16 minggu akan mampu mensekresikan kolostrum, meskipun fetus yang dilahirkan *non-viable*. Estrogen memperantarai peningkatan sekresi prolaktin plasma 10-20x lipat selama kehamilan. Efek ini dikendalikan oleh HPL, yang memberikan kontrol negatif (Lawrence, 2011; Hassiotou & Geddes, 2012).

Berkebalikan dibandingkan fase pubertas; estrogen memiliki efek langsung dan tidak langsung terhadap perkembangan jaringan payudara wanita, estrogen tidak memiliki peran penting pada perkembangan payudara selama kehamilan selain sebagai potensiator prolaktin. Kadar estrogen tinggi selama kehamilan, tetapi tidak berpengaruh pada tahapan *mammogenesis*. Diferensiasi sel sekretori alveolar dikaitkan dengan pengaruh prolaktin. *Growth factors* serum maternal dan insulin dapat menstimulasi sel tunas pada kelenjar payudara untuk berproliferasi. Proses proliferasi sel ini akan membentuk alveoli duktus yang dikendalikan oleh hormon kortikosteroid. Setidaknya 2 macam sel diidentifikasi pada permukaan epitel kelenjar: *stem cell* dan *secretory alveolar cell* (Lawrence, 2011; Hassiotou & Geddes, 2012).

2.1.2.2 Laktogenesis

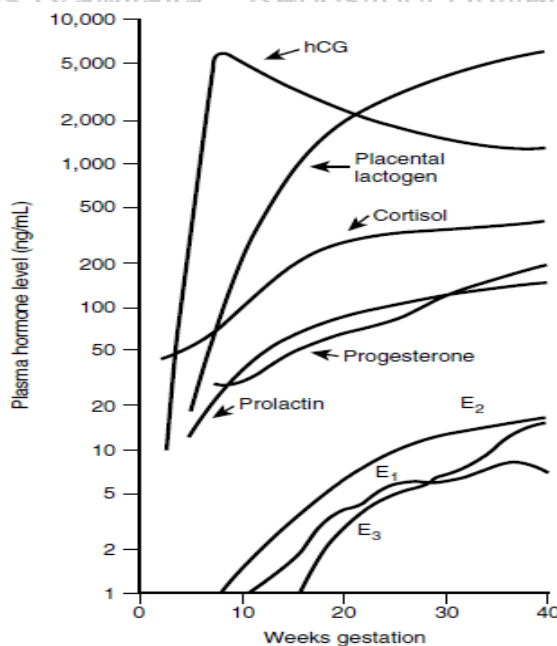
Laktogenesis adalah tahapan awal kelenjar *mammæ* pada payudara ibu untuk menghasilkan ASI yang terbagi dalam 3 fase sebagai berikut (Lawrence, 2011):

2.1.2.2.1 Laktogenesis I

Fase laktogenesis I dimulai kurang lebih 12 minggu sebelum persalinan dan ditandai peningkatan signifikan kadar laktosa, total protein, imunoglobulin, dan penurunan kadar natrium dan klorida. Komposisi ASI sebelum sekresi



prepartum ini relatif konstan sampai waktu persalinan yang dapat dievaluasi melalui kadar protein α -laktalbumin.



Gambar 2.2 Kadar hormon dalam plasma selama kehamilan. Peningkatan kadar prolaktin plasma diikuti peningkatan kadar estrogen, progesteron, dan *human placental lactogen* plasma selama kehamilan; yang bersifat antagonis terhadap efek stimulasi produksi ASI oleh prolaktin.

Keterangan: E1, estrone; E2, estradiol; E3, estriol; hCG, *human chorionic gonadotropin*

Dikutip dari: Neville *et al.*, 2001.

Peningkatan kadar prolaktin dalam plasma selama kehamilan tidak berhubungan dengan produksi ASI yang melimpah, karena efek antagonis progesteron terhadap efek stimulasi prolaktin terhadap sintesis kasein *messenger ribonucleic acid* (mRNA). Pada akhir kehamilan, reseptor laktogenik, yang memiliki afinitas yang sama terhadap prolaktin dan *human placental lactogen* (HPL), sebagian besar ditempati oleh HPL. Kadar estradiol yang tinggi dalam plasma mengganggu ikatan prolaktin dengan sel kelenjar *mammæe* payudara yang mensekresi ASI. Prolaktin kehilangan efeknya dalam menstimulasi produksi ASI selama kehamilan karena tingginya kadar

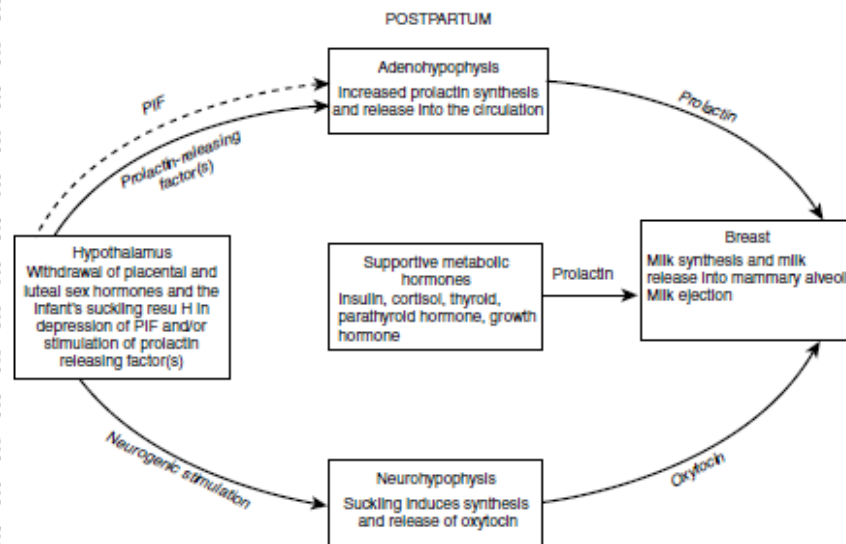


progesteron plasma (gambar 2.2). Setelah periode *post partum*, penurunan mendadak kadar estrogen dan progesteron, akan menginduksi efek prolaktin untuk memproduksi ASI secara berlimpah. Hormon kunci pada laktasi adalah prolaktin, insulin, dan hidrokortison (Neville *et al.*, 2001).

Pada fase ini, lobulus alveolos jumlahnya akan bertambah dan ukurannya juga akan bertambah besar. Proses penambahan jumlah dan volume lobulus alveolus ini terjadi pada akhir masa kehamilan. Pada masa penambahan dan pembesaran lobulus alveolus, payudara juga memproduksi cairan berwarna kekuning-kuningan yang disebut kolostrum. Dalam proses pembentukan kolostrum, hormon progesteron meningkat jumlahnya, sehingga hal ini akan menghambat atau mencegah produksi ASI (Neville *et al.*, 2001; Lawrence, 2011).

2.1.2.2.2 Laktogenesis II

Fase laktogenesis II terjadi setelah persalinan. Pada fase ini merupakan awal produksi ASI secara berlimpah. Terjadi peningkatan aliran darah, oksigen, glukosa, dan peningkatan kadar sitrat. Peningkatan kadar sitrat susu diketahui sebagai penanda fase kedua laktogenesis. Progesteron memainkan peran pokok dalam fase ini. Pelepasan plasenta (yaitu; sumber progesteron selama kehamilan) diperlukan untuk inisiasi sekresi susu. Namun, plasenta tidak menghambat proses laktasi. Penelitian oleh Haslam & Shyamala (1979) menunjukkan bahwa reseptor progesteron hilang dalam jaringan payudara menyusui, sehingga mengurangi efek penghambatan sirkulasi progesteron. Selain itu, sekresi insulin ibu, hormon pertumbuhan (GH), kortisol, dan hormon paratiroid (PTH) memfasilitasi mobilisasi nutrisi dan mineral yang dibutuhkan untuk menyusui (gambar 2.3).



Gambar 2.3 Preparasi hormon laktasi pasca persalinan. Prolaktin pada manusia adalah hormon yang penting pada proses kehamilan dan laktasi. Sesaat setelah pengeluaran plasenta (periode pasca persalinan), *luteal sex hormone* menurun kadarnya secara progresif. Pengisapan puting susu ibu oleh bayi akan menginduksi inhibisi PIF, menstimulasi *prolactin releasing factor*, menginduksi pelepasan oksitosin; hasil akhirnya adalah peningkatan kadar prolaktin serum maternal yang berperan dalam sintesis ASI. Keterangan: PIF, *Prolactin-inhibiting factor*.

Dikutip dari: Vorherr, 1974.

Pada fase laktogenesis II, terjadi pengeluaran plasenta yang mengakibatkan menurunnya kadar hormon progesteron, estrogen, dan HPL. Turunnya ketiga kadar hormon ini mengakibatkan terjadinya pembentukan atau produksi ASI secara melimpah, karena kadar hormon prolaktin tetap tinggi. Jika terjadi rangsangan pada payudara, misalnya hisapan bayi hal ini akan membuat kadar prolaktin dalam darah ikut meningkat dan akan mencapai pucak produksi dalam periode kurang lebih sekitar 45 menit kemudian kembali normal. Hal inilah yang menjadi alasan mengapa seorang ibu hendaknya menyusui bayinya sesegera mungkin setelah melahirkan. Hormon prolaktin yang menstimulasi sel dalam alveoli dan merangsangnya untuk memproduksi ASI juga akan keluar tercampur dalam ASI itu sendiri saat bayi menghisapnya. Pada penelitian yang



telah dilakukan, hormon prolaktin akan meningkat jumlahnya atau lebih tinggi jumlahnya dan memproduksi ASI lebih banyak pada pukul 2 hingga 6 pagi.

Ketika payudara terasa penuh dengan ASI, maka secara otomatis kadar hormon prolaktin juga akan ikut berkurang. Proses laktogenesis ini dimulai sekitar 30-40 jam setelah melahirkan, namun pada umumnya, ibu yang baru saja melahirkan akan merasakan payudaranya penuh setelah 2-3 hari pasca melahirkan. Artinya, ASI memang tidak bisa langsung keluar sesaat setelah melahirkan, diperlukan sebuah rangsangan agar ASI dapat keluar (Lawrence, 2011).

2.1.2.2.3 Laktogenesis III

Pada fase ini berlangsung pemeliharaan sekresi ASI, awalnya disebut galaktopoiesis. Sumbu hipotalamus-hipofisis yang mengatur prolaktin dan kadar oksitosin sangat penting untuk inisiasi dan pemeliharaan laktasi. Proses menyusui membutuhkan sintesis ASI dan pelepasannya ke dalam alveoli dan sinus laktiferus. Ketika ASI tidak disekresikan, tekanan aliran darah kapiler berkurang dan menghambat proses laktasi. Kurangnya stimulasi mengisap berarti menghambat pelepasan prolaktin dari kelenjar pituitari. Kadar prolaktin basal yang dipengaruhi peningkatan kadarnya oleh karena mekanisme pengisapan oleh mulut bayi, diperlukan untuk menjaga laktasi pada minggu pertama pasca persalinan. Tanpa oksitosin, kehamilan aterm tetap bisa terjadi, tetapi ibu hamil akan mengalami kegagalan laktasi karena kehilangan *let-down reflex* (Lawrence, 2011).

Ujung saraf sensorik terletak di areola dan puting susu, dirangsang dengan reflek menghisap bayi. Jalur reflek saraf aferen berjalan mulai medula spinalis asenden ke mesensefalon, dan kemudian ke hipotalamus; mensekresi dan melepaskan prolaktin dan oksitosin. Supresi hipotalamus setelah sekresi awal PIF menyebabkan pelepasan prolaktin adenohipofiseal. Saat prolaktin dilepaskan ke dalam sirkulasi, hormon ini merangsang sintesis dan sekresi ASI.



Sebuah kondisi ejeksi ASI bisa terjadi pada wanita menyusui tanpa pelepasan prolaktin secara bersamaan, menunjukkan faktor pelepasan prolaktin bersifat independen, yang kemungkinan penting dalam terapi kegagalan laktasi (Lawrence, 2011; Hassiotou & Geddes, 2012).

Meskipun sekresi oksitosin dan prolaktin diinduksi oleh stimulasi puting susu, beberapa oksitosin dilepaskan oleh mekanisme sensorik lain, seperti jalur visual, taktil, olfaktori, dan auditori. Ibu hamil bisa mengejeksi ASI saat melihat, menyentuh, mendengar, mencium, atau memikirkan bayinya. Sedangkan prolaktin, hanya dilepaskan melalui stimulasi puting susu, jadi produksi ASI tidak dipengaruhi oleh jaras sensorik lain. Oksitosin juga dilepaskan pada beberapa kondisi stres fisis, seperti nyeri, olah raga, dingin, panas, perubahan osmolalitas plasma, atau hipovolemia, tetapi respon ini menjadi tumpul selama fase laktasi (Lawrence, 2011).

2.1.2.3 Involusi

Fase involusi berlangsung kurang lebih 40 hari setelah proses menyusui berakhir. Produksi ASI menurun tajam diikuti pembentukan peptida inhibitor yang menghentikan produksi ASI dari kelenjar *mammæ* payudara ibu (Lawrence, 2011).

2.1.3 Tipe Air Susu Ibu

2.1.3.1 ASI kolostrum

Kolostrum adalah ASI yang keluar pada beberapa hari pertama kelahiran, biasanya berwarna kuning kental. Air susu ini sangat kaya protein, dan zat kekebalan tubuh/ imunoglobulin (IgG, IgA, dan IgM); mengandung lebih sedikit lemak dan karbohidrat. Pada awal menyusui, kolostrum yang keluar mungkin hanya sebanyak 1 sendok teh. Namun, ibu tidak perlu khawatir dengan jumlah kolostrum yang sedikit itu. Pada hari pertama, bayi tidak memerlukan banyak makanan karena masih ada cadangan makanan yang dibawa sejak di



dalam kandungan. Kolostrum berperan melapisi dinding usus bayi dan melindungi dari bakteri. Kolostrum juga merupakan pencahar ideal yang berperan mengeluarkan zat yang tidak terpakai dari usus bayi baru lahir serta mempersiapkan saluran pencernaan untuk bisa menerima makanan bayi berikutnya. Produksi kolostrum akan berkurang perlahan saat ASI keluar pada hari ke-3 hingga hari ke-5. Jumlah kolostrum memang sangat sedikit, volumenya hanya 150–300 ml/24 jam. Kandungan ASI pada stadium kolostrum antara lain: energi 57,0 kkal, laktosa 6,5 g/100ml, lemak 2,9 g/100ml, protein 1,195 g/100ml, mineral 0,3 g/100ml, Immunoglobulin (IgA 335,9 mg/100ml, IgG 5,9 mg/100ml, IgM 17,1 mg/100ml), lisosim 14,2–16,4 mg/100ml, laktoferin 450–520 mcg/ml) (Riksani, 2012).

2.1.3.2 ASI transisi/ peralihan

ASI transisi/ peralihan adalah ASI yang keluar setelah kolostrum sampai sebelum ASI matur yaitu sejak hari ke-4 sampai hari ke-10. Selama 2 minggu, volume air susu bertambah banyak, berubah warna, dan komposisinya, kadar imunoglobulin dan protein menurun, sedang lemak dan laktosa meningkat. Kandungan ASI pada ASI transisi antara lain: energi 63,0 kkal, laktosa 6,7 g/100ml, lemak 3,6 g/100ml, protein 0,965 g/100ml, mineral 0,3 g/100ml (Nanny & Sunarsih, 2011).

2.1.3.3 ASI matur

ASI matur disekresi pada hari ke-10 dan seterusnya. ASI matur nampak berwarna putih. Kandungan ASI matur relatif konstan, tidak menggumpal bila dipanaskan. ASI yang mengalir pertama kali atau saat 5 menit pertama disebut *fore-milk*. *Fore-milk* lebih encer dan mempunyai kandungan rendah lemak dan tinggi laktosa, gula protein, mineral dan air. Air susu yang keluar setelahnya disebut *hind-milk*. *Hind-milk* kaya akan lemak dan nutrisi. *Hindmilk* membuat bayi



akan lebih cepat kenyang. Dengan demikian, bayi akan membutuhkan keduanya, baik *fore-milk* maupun *hind-milk* (Marmi, 2012).

2.1.4 Komposisi air susu ibu

ASI mengandung sebagian besar air sebanyak 87,5%, oleh karena itu bayi yang mendapat cukup ASI tidak perlu mendapat tambahan air walaupun berada di tempat dengan suhu udara panas. Di dalam ASI terdapat laktosa, laktosa ini merupakan karbohidrat utama dalam ASI yang berfungsi sebagai salah satu sumber energi untuk otak. Kadar laktosa yang terdapat dalam ASI hampir dua kali lipat dibanding laktosa yang ditemukan pada susu formula. Kadar karbohidrat dalam kolostrum tidak terlalu tinggi, tetapi jumlahnya meningkat terutama laktosa pada ASI transisi (7-14 hari setelah melahirkan). Setelah melewati masa ini maka kadar karbohidrat ASI relatif stabil (Jackson & Nazar, 2006; IDAI, 2015).

Selain karbohidrat, ASI juga mengandung protein. Kandungan protein ASI cukup tinggi dan komposisinya berbeda dengan protein yang terdapat dalam susu formula. Protein dalam ASI dan susu formula terdiri dari *protein whey* dan *casein*. Protein dalam ASI lebih banyak terdiri dari protein *whey* yang lebih mudah diserap oleh usus bayi, sedangkan susu formula lebih banyak mengandung protein kasein yang lebih sulit dicerna oleh usus bayi. Jumlah kasein yang terdapat di dalam ASI hanya 30%, dibanding susu formula yang mengandung protein dalam jumlah yang tinggi (80%). Disamping itu, ASI mempunyai asam amino yang lengkap yaitu taurin. Taurin diperkirakan mempunyai peran pada perkembangan otak karena asam amino ini ditemukan dalam jumlah cukup tinggi pada jaringan otak yang sedang berkembang. ASI juga mengandung lemak, kadar lemak dalam ASI pada mulanya rendah kemudian meningkat jumlahnya. Lemak ASI berubah kadarnya setiap kali disap oleh bayi yang terjadi secara otomatis. Selain jumlahnya yang mencukupi, jenis



lemak yang ada dalam ASI mengandung lemak rantai panjang yang merupakan lemak kebutuhan sel jaringan otak dan sangat mudah dicerna serta mempunyai jumlah yang cukup tinggi. Dalam bentuk Omega 3, Omega 6, DHA (*Docosohexaenoic Acid*), dan ARA (*Arachidonic Acid*) merupakan komponen penting untuk melindungi bayi. Selain karbohidrat, lemak, protein, ASI juga mengandung mineral, vitamin K, vitamin A, vitamin D, vitamin E, dan vitamin yang larut dalam air. Hampir semua vitamin larut dalam air seperti vitamin B, asam folat, vitamin C terdapat dalam ASI. ASI mengandung berbagai komponen imunoterapi alamiah yang dapat mencegah terjadinya EKN. Beberapa komponen dasar dalam ASI yang berperan antara lain *growth factors*, asam lemak, dan mikroba (tabel 2.1) (Khader *et al.*, 2013; Ballard & Morrow, 2014).

Tabel 2.1 Komponen penting ASI

<i>Growth Factors</i>	<i>Epidermal Growth Factor</i> (EGF), <i>Neuronal Growth Factor</i> , <i>Insulin-like Growth Factor</i> (IGF), <i>Vascular endothelial growth factor</i> (VEGF), <i>Erythropoietin</i> (Epo), <i>Growth-regulating hormones</i> (kalsitonin dan somatostatin), <i>Heparin Binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor</i> (HB-EGF)
<i>Antimicrobial Protein and Peptides</i>	<i>Human Defensin</i> , PDC213
Asam Lemak	Asam Lemak Tak Jenuh (PUFA: Omega 3, asam lemak Omega-6), <i>Branched Chain Fatty Acid</i>
Mikroba (Probiotik)	<i>Bifidobacterium sp.</i> <i>Lactobacillus sp.</i>

Dikutip dari: Khader *et al.*, 2013; Ballard & Morrow, 2014.

2.1.4.1 *Growth Factors*

Air susu ibu mengandung sejumlah peptida biologis aktif atau *growth factors* dalam jumlah bermakna, yang memiliki efek biologis terhadap saluran pencernaan, pembuluh darah, susunan saraf, dan sistem endokrin (Ballard &



Morrow, 2014). EGF adalah salah satu *growth factors* yang didapatkan pada ASI, EGF sangat penting untuk pematangan dan penyembuhan mukosa usus. EGF tahan terhadap pH rendah dan enzim pencernaan, memungkinkan untuk melewati lambung ke usus, dimana EGF merangsang enterosit untuk meningkatkan sintesis DNA, pembelahan sel, absorpsi air, glukosa, dan sintesis protein (Chang & Chao, 2002). Terdapat beberapa mekanisme protektif EGF pada usus bayi, termasuk inhibisi program kematian sel dan perbaikan protein *tight junction* pada usus dan hati bayi yang diinduksi oleh faktor pro-inflamasi TNF- α (Khailova *et al.*, 2009). Heparin-binding growth factor (HB-EGF) adalah anggota *family* EGF, dan faktor pertumbuhan utama yang bertanggungjawab pada perbaikan kerusakan akibat hipoksia, *ischemia-reperfusion injury*, syok hemoragik, cedera resusitasi, dan enterokolitis nekrotikan (Radulescu *et al.*, 2011). Kadar EGF tertinggi pada susu awal dan menurun selama laktasi (Dvorak *et al.*, 2003; 2004). Tingkat EGF rata-rata di kolostrum adalah 2.000 kali lipat lebih tinggi dan di ASI matur 100 kali lipat lebih tinggi daripada serum maternal. Dan ASI preterm mengandung tingkat EGF lebih tinggi daripada ASI matur (Dvorak *et al.*, 2003; 2004).

Insulin-like growth factor-1, *insulin-like growth factor-2*, *IGF-binding protein*, dan *IGF-specific protease*, ditemukan di susu manusia (Blum & Baumrucker, 2002; Philipps *et al.*, 2002). Tingkat tertinggi didapatkan kolostrum dan terus menurun selama laktasi (Milsom *et al.*, 2008). Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara susu prematur dan susu matur, dengan pengecualian kadar protein *IGF-2 binding protein*, yang lebih tinggi pada susu *preterm* (Blum & Baumrucker, 2002; Elmlinger *et al.*, 2007). Pada tikus, pemberian IGF-1 manusia selama stres pembedahan/ nutrisi total parental mengakibatkan peningkatan pertumbuhan jaringan dan atrofi intestinal, meskipun tidak ada percobaan manusia yang telah dilakukan (Peterson *et al.*, 2000; Murali



et al., 2005; Corpeleijn et al., 2008). *Insulin-like growth factor-1* juga berperan dalam kelangsungan hidup enterosit setelah kerusakan usus akibat stres oksidatif (Elmlinger et al., 2007). Bayi yang mendapat ASI memiliki IGF-1 serum yang lebih tinggi (Buyukkayhan et al., 2003). *Insulin-like growth factor-1* dapat diambil dalam bentuk bioaktif oleh usus, dan diangkut ke dalam sirkulasi darah (Philipps et al., 2000; 2002). Fungsi IGF yang terserap belum sepenuhnya terinci, tapi pemberian enteral kadar fisiologis IGF-1 merangsang eritropoiesis dan meningkatkan hematokrit (Kling, 2006).

2.1.4.2 **Antimicrobial Protein and Peptides (AMP)**

Air susu ibu mengandung sejumlah peptida bioaktif, termasuk *human defensin*; *human beta defensin-2* mempengaruhi sinyal TLR dan menampilkan aktivitas anti mikroba yang luas terhadap bakteri patogen. Hal ini menunjukkan bahwa kehadiran *human beta defensin-2* dalam susu manusia dapat membantu mempertahankan imunitas usus bayi (He Y et al., 2016).

2.1.4.3 **Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA)**

Komponen PUFA telah banyak diteliti, termasuk penelitian oleh Lu et al. tentang komponen dari PUFA yang berperan protektif terhadap EKN pada binatang coba, hasilnya menunjukkan bahwa formula yang tidak mengandung PUFA sama efektifnya dalam menurunkan kejadian EKN dibandingkan dengan formula mengandung PUFA dengan 3 formulasi yang berbeda. Penelitian oleh Caplan et al. salah satu mekanisme utama peran PUFA terhadap kejadian perlukaan dan inflamasi pada usus, antara lain melalui proses yang diperantarai PAF. Implikasi PAF pada patofisiologi EKN adalah melalui pengaruh PAF pada permeabilitas mukosa usus dan inflamasi. *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) menurunkan sintesis reseptor PAF, memodulasi kadar ekspresi TLR4 dalam usus, dan menghambat PAF yang menginduksi apoptosis sel epitel (Khader et al., 2013).



2.1.4.4 Imunoglobulin

Imunoglobulin (Ig)A dan IgG yang disekresi ASI dan telah terbukti menurunkan kejadian inflamasi EKN. Pemberian IgA dan IgG secara oral terbukti memberikan efek protektif pada mukosa saluran pencernaan. Imunoglobulin A berperan penting dalam imunitas mukosa, sedangkan IgG berperan dalam sistem imun pada bayi. Namun, belum ada bukti yang menunjukkan bahwa kejadian EKN berkurang dengan pemberian imunoglobulin secara oral (Herrmann & Woolen, 2014).

2.1.4.5 Probiotik

Efek biologis ASI pada flora usus telah banyak diteliti dengan membandingkan komposisi bakteri pada feses bayi yang mendapatkan ASI dan susu formula. Hal ini dimungkinkan karena perbedaan komposisi zat gizi pada ASI dan sterilitas ASI. Yang paling banyak diteliti adalah *Bifidobacterium sp.* dan *Lactobacillus sp.*, keduanya berkolonisasi dalam usus, dan lebih tinggi proporsinya pada bayi yang mendapat ASI dibandingkan yang mendapat susu formula. Efek probiotik yang menguntungkan pada EKN, diduga karena pengaruh modulasi probiotik terhadap inflamasi usus, dan pengaruhnya terhadap fungsi pertahanan usus, produksi musin, dan turunnya kejadian apoptosis (Frargy, 2014).

2.1.5 Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi air susu ibu (ASI)

Faktor-faktor berikut ini dapat mempengaruhi stimulasi payudara ibu dan produksi air susu ibu (Riordan, 2004):

2.1.5.1 Faktor maternal

- Usia ibu;
- Stress/ kecemasan (dapat menurunkan produksi dan reflek pengeluaran ASI);
- Ibu yang bekerja;



- Ketidakseimbangan kadar hormon (kelenjar tiroid, *polycystic ovary syndrome*, diabetes tipe 1/2);
- Primigravida;
- Riwayat pembedahan payudara;
- Penyalahgunaan narkotika, alkohol, dan zat terlarang;
- Infeksi pada payudara;
- Asupan nutrisi ibu inadekuat (<1.500 kkal/ hari).

2.1.5.2 Faktor neonatal

- Penggunaan susu formula;
- Bayi menolak menyusu (puting susu datar dan ukuran puting susu besar);
- Hiperbilirubinemia pada neonatus;
- Prematuritas dan berat badan lahir rendah;
- Infeksi neonatal;
- *Tongue tie*.

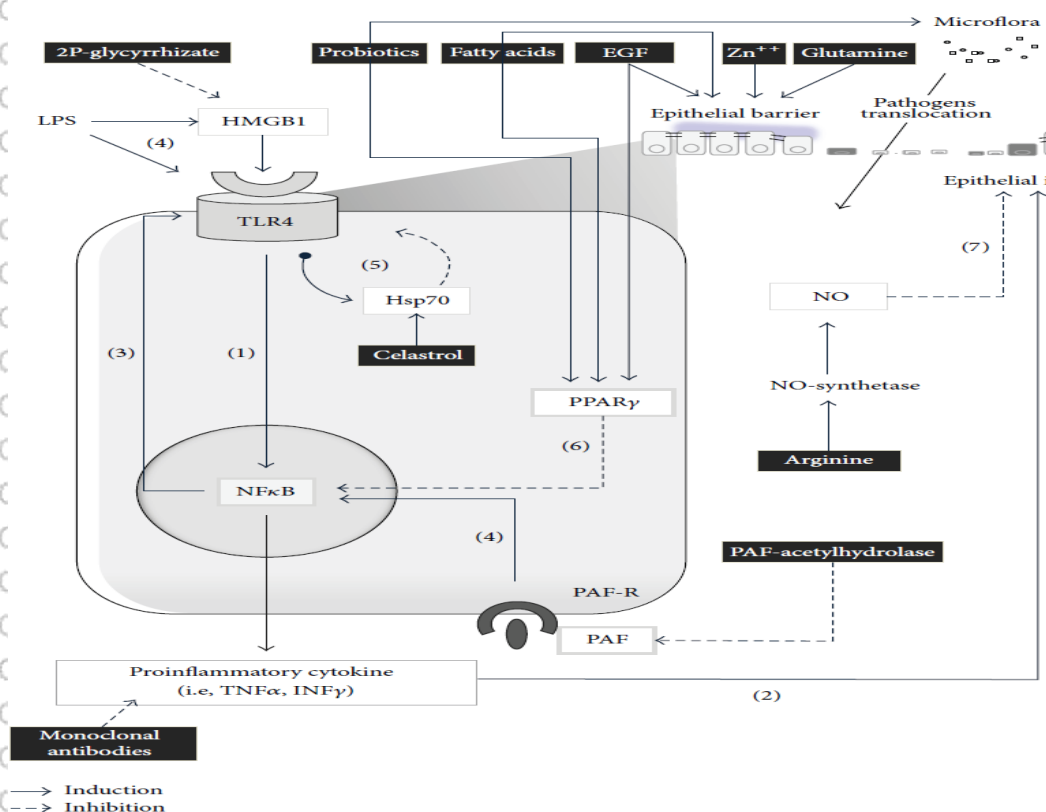
2.1.6 Air susu ibu (ASI) sebagai salah satu strategi pencegahan inflamasi saluran pencernaan pada neonatus

Insiden inflamasi saluran pencernaan pada bayi yang mendapat ASI lebih rendah dibandingkan dengan bayi yang mendapat susu formula. Sekitar tahun 1990, penelitian yang membandingkan antara bayi yang mendapat ASI dengan yang mendapat susu formula, risiko EKN meningkat 6-10 kali pada bayi yang mendapat susu formula dan meningkat menjadi 3 kali pada kelompok campuran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok bayi yang diberikan ASI daripada susu formula ($>50\%$) dibandingkan kelompok bayi yang diberikan susu formula daripada ASI ($<50\%$), risiko kejadian EKN menurun 3 kali. Meskipun pada ibu-ibu dengan bayi kurang bulan, pada umumnya terkendala dengan jumlah ASI yang tidak mencukupi. Penelitian lain membandingkan antara pemberian ASI, ASI yang difortifikasi, dan ASI donor. Selain itu ASI



ditambah dengan fortifikasi dari sapi atau formula untuk kurang bulan, dengan hasil penelitian pada kelompok yang mendapat ASI eksklusif menunjukkan penurunan 50% kejadian EKN dan penurunan sampai 90% EKN yang memerlukan tindakan bedah. ASI mengandung beberapa faktor bioaktif protektif seperti imunoglobulin/ antibodi spesifik antigen, leukosit, enzim, laktoferin, faktor pertumbuhan, oligosakarida, dan asam lemak yang dapat memodulasi respon inflamasi pada usus. Selain itu ASI juga menstimulasi kolonisasi organisme yang menguntungkan seperti *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus*. Namun faktor-faktor bioaktif ini akan berkurang bermakna setelah pasteurisasi (Neu & Walker, 2011; Chu *et al.*, 2013).

Air susu ibu merupakan strategi yang paling efektif dalam melindungi bayi terhadap EKN. Air susu ibu mencegah EKN melalui inhibisi TLR4 di dalam epitel usus, melalui aktivasi EGF. Inhibisi ekspresi TLR4 dalam epitel usus, menunjukkan efek proteksi ASI. Efek proteksi ini melalui inhibisi apoptosis enterosit dan perbaikan proliferasi enterosit. Di dalam enterosit IEC-6, ASI menghambat signaling TLR4 melalui inhibisi *glycogen synthase kinase-3 β* (GSK3 β) (gambar 2.4) (Terrin *et al.*, 2014).



Gambar 2.4 Beberapa kemungkinan intervensi terapi pada mekanisme molekuler yang menginduksi EKN

Keterangan: (1) TLR4 menginduksi sitokin proinflamasi melalui jalur NFκB, (2) Sitokin proinflamasi memicu perlukaan epitel, (3) Signal NFκB meningkatkan ekspresi TLR4, (4) Signal TLR4 dapat diinduksi langsung oleh produk bakteri dan melalui NFκB oleh reseptor yang diaktivasi PAF, (5) TLR4 diautoregulasi oleh protein hsp70, (6) PPAR, memblok jalur NFκB, merupakan inhibitor kuat signal TLR4, (7) NO, yang diproduksi NO sintase, melindungi epitel.

Dikutip dari: Terrin *et al.*, 2014.

2.1.7 Air susu ibu pada neonatus prematur

Air susu ibu adalah cairan air susu hasil sekresi dari payudara setelah ibu melahirkan. ASI memiliki kandungan zat gizi yang lengkap dan sempurna untuk keperluan bayi. Hal-hal tersebut menjadikan ASI sebagai satu-satunya makanan terbaik dan paling cocok untuk bayi. Kandungan nutrisi ASI neonatus prematur berbeda dengan neonatus aterm. Air susu neonatus prematur memiliki kandungan protein, lemak, dan natrium yang lebih tinggi, seperti pada tabel 2.2.



Akan tetapi kandungan nutrisi yang lebih tinggi ini akan berkurang pada bulan pertama setelah lahir, sedangkan kebutuhan nutrisi neonatus prematur terus meningkat hingga mencapai usia kehamilan yang sebenarnya (Bhatia, 2007).

Tabel 2.2 Perbedaan kandungan ASI pada neonatus prematur dan aterm

	Energy (measured)		Protein (true protein)		Fat		Lactose	
	Preterm	Term	Preterm	Term	Preterm	Term	Preterm	Term
Colostrum	49	54	2.7	2.0	2.2	1.8	5.1	5.6
Mature milk	73	63	1.1	1.0	3.3	3.4	6.2	6.5
Difference	49%	16%	-61%	-52%	50%	93%	21%	16%
p-value	<0.00001*	<0.00001*	<0.00001*	<0.00001*	<0.00001*	<0.00001*	<0.00001*	<0.00001*
	Calcium		Phosphate					
	Preterm	Term	Preterm	Term				
Colostrum	25	26	9.5	11				
Mature milk	29	26	12.8	16				
Difference	13%	-2%	35%	41%				
p-value	0.003	0.62	0.002	0.001				

Dikutip dari: Gidrewicz & Fenton, 2014.

Produksi ASI neonatus prematur terkadang tidak mencukupi kebutuhan bayi. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya ialah keterlambatan inisiasi laktasi, stres, kelelahan, ibu kembali bekerja, dan masalah kesehatan ibu. Kelelahan dan rasa nyeri mengakibatkan stimulasi faktor inhibitor prolaktin sehingga menghambat produksi ASI. Selain masalah tersebut, pemberian cairan pada neonatus prematur seringkali terbatas karena bayi tidak menyusu secara *ad libitum*. Restriksi cairan juga seringkali dilakukan pada neonatus prematur karena kondisi klinisnya. Fisiologi dasar ibu menghasilkan perbedaan komposisi antara ASI dari ibu dengan neonatus aterm dan prematur, meskipun demikian, manfaat penyediaan air susu ibu untuk neonatus prematur sangat banyak dan tercantum di tabel 2.3 (Gidrewicz & Fenton, 2014).

Tabel. 2.3 Keuntungan pemberian ASI pada neonatus prematur

Host defense benefits	Lower incidence of infections
	Decreased necrotizing enterocolitis
	Decreased diarrhea and urinary tract infection
	Decreased late-onset sepsis
	Decreased otitis media
	sIgA, lactoferrin, lysozyme, oligosaccharides, nucleotides, cytokines, growth factors, enzymes, antioxidants, specific amino acids may all contribute to the improved host defense
Neurodevelopment	Improved long-term cognitive development
	'Intention' to breastfeed may also influence outcome by positive health behaviors in the mothers
	Improved visual function
	Decreased retinopathy of prematurity
	Factors that influence neurodevelopmental outcome are not clear and may include the long chain polyunsaturated fatty acids, cholesterol, antioxidants, taurine, growth factors and unknown maternal factors
Gastrointestinal effects	More rapid gastric emptying
	Improved lactase activity

Dikutip dari: Bhatia, 2007.

2.2 Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1)

2.2.1 IGF-1 dan IGF-Binding Proteins

Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) adalah peptida rantai tunggal dengan berat molekul 7,5 kDa. IGF-1 merupakan stimulator poten dari mitogenesis dan galaktopoiesis pada kultur sel *mammæ* (Sara & Hall, 1990) dan diperkirakan memperantarai sebagian besar aksi hormon pertumbuhan (*growth hormone/ GH*) pada kelenjar *mammæ* ibu (Davis *et al.*, 1987). Aksi biologis IGF-1 tergantung pada respon sel target yang dimodulasi *insulin-like growth factor binding proteins* (IGBP), reseptor spesifik, ekspresi relatif hormonal, dan afinitas ligand. *Insulin-like growth factor-1* (IGF-1, sebelumnya disebut *somatomedin C*) digunakan oleh



hampir setiap sel dalam tubuh. IGF-1 memiliki dua peran utama, peran metabolik dimana IGF-1 bekerja serupa dengan insulin, dan peran yang mendorong pertumbuhan. Dengan demikian, IGF-1 memiliki kemampuan untuk mempengaruhi pertumbuhan proliferaatif baik dengan menginduksi mitosis, dan pertumbuhan hipertrofik dengan merangsang proses anabolik seperti transportasi glukosa, *uptake* asam amino, dan sintesis protein (Sara & Hall, 1990). Hormon pertumbuhan (*growth hormone/ GH*) telah diketahui sebagai pengatur utama ekspresi gen IGF-1 pada manusia dewasa dalam berbagai jaringan (Hynes *et al.*, 1987; Sara & Hall, 1990). IGF-1 diproduksi di sebagian besar jenis jaringan untuk aksi parakrin dalam jaringan, dan dalam jumlah besar oleh hati (bersamaan dengan protein pengikat; *insulin-like growth factor binding proteins/ IGFBP*) untuk fungsi endokrin (Sara & Hall, 1990). Peran utama IGF-1 (dalam memberikan respon terhadap GH) adalah untuk merangsang pembelahan sel di lempeng epifisis tulang panjang, yang mengarah ke pertumbuhan linear (Ernst & Froesch, 1988). Bahkan setelah pertumbuhan linear individu selesai, IGF-1 terlibat dalam proliferasi banyak jenis jaringan, termasuk jaringan *mammæ*.

Empat dari 6 IGFBP (IGFBP-1 sampai -4) telah dilaporkan keberadaannya dalam air susu dan bergantung pada spesies. IGFBP dapat dipisahkan menjadi fraksi berdasarkan berat molekul tinggi (150 kDa) atau berat molekul rendah (<50 kDa) dengan kromatografi. Kadar puncak kompleks IGFBP-3 dan ALS (*acid-labile subunit*) 150 kDa/ ALS telah ditunjukkan pada susu manusia (Corps *et al.*, 1988), tikus (Donovan *et al.*, 1991), dan babi (Simmen *et al.*, 1988). Susu adalah satu-satunya cairan fisiologis selain serum dan limfe yang mengandung kompleks IGFBP-3 dan ALS 150 kD. Dengan menggunakan teknik *ligand western blotting*, air susu telah terbukti mengandung IGFBP-1, IGFBP-2, dan IGFBP-4 (Donovan *et al.*, 1991; 1994). Dan apakah IGFBP pada



susu melindungi IGF dari proses pencernaan tidak diketahui. Namun, IGFBP tampaknya mempengaruhi aksi IGF di usus yang terbukti dengan keefektifan analog IGF yang lebih besar dalam merangsang pertumbuhan saluran pencernaan.

2.2.2 IGF-1 pada air susu ibu

IGF-1 telah dilaporkan ada pada air susu dari semua spesies. Meskipun IGF-2 pada air susu kurang diketahui karakteristiknya, tetapi didapatkan pada semua spesies yang dipelajari. IGF-1 dan IGF-2 memiliki kadar yang lebih tinggi pada sekresi prepartum dan kolostrum tetapi menurun tajam selama 2-4 hari pertama menyusui. Kadar IGF kolostrum pada manusia (Baxter *et al.*, 1984) dan tikus (Donovan *et al.*, 1992) adalah 2-3 kali lipat lebih tinggi daripada susu matur, sedangkan kadarnya pada kolostrum sapi dan babi (Simmen *et al.*, 1988; Donovan *et al.*, 1994;) mengandung 10-500 kali lipat lebih tinggi dibandingkan susu matur. Apakah perbedaan akumulasi susu IGF prepartum adalah refleksi fakta bahwa spesies produksi ini dipilih karena produksi susu yang tinggi masih belum diketahui. Selain itu, bentuk terpotong IGF-1 (*des-tripeptide IGF-1*) telah dilaporkan didapatkan sejumlah 50% dari IGF-1 pada kolostrum sapi, tetapi hanya didapatkan sejumlah 3% pada susu sapi. Varian IGF-1 yang terpotong, tidak memiliki 3 terminal asam amino, memiliki afinitas yang berkurang pada beberapa IGFBP dan memiliki 5-10 kali lipat aktivitas biologis yang lebih tinggi pada *bioassay in vitro* (Ross *et al.*, 1989). Collier *et al.* melaporkan bahwa pertumbuhan saluran pencernaan tikus sangat sensitif terhadap aksi *des-IGF-1*. Apakah *des-IGF-1* hadir dalam air susu spesies lain belum ditentukan. IGF tidak terpengaruh oleh pasteurisasi air susu sapi (79°C, 45 detik) (Collier *et al.*, 1991) atau dengan perlakuan panas susu manusia yang disimpan (56°C, 30 menit) (Donovan *et al.*, 1991) tetapi kadarnya terhapus atau hancur selama pengolahan susu formula bayi (Collier *et al.*, 1991).



Kadar IGF-1 tertinggi didapatkan pada sekresi *kelenjar mammae* pre-partum dan kolostrum (Prosser, 1996) dan kemudian menurun secara cepat dengan onset produksi ASI matur. Sebuah penelitian menemukan bahwa tingkat IGF-1 relatif stabil setelah usia 4 hari *post partum*, bertahan selama sekitar 2 minggu, dan kemudian mengalami penurunan moderat selama 1 hingga 3 bulan, dan kemudian kadarnya tetap stabil sampai setidaknya 9 bulan setelah kelahiran (Milsom *et al.*, 2008). Penelitian lain menemukan tingkat IGF-1 yang sangat tinggi pada sekresi susu prepartum dan kolostrum, diikuti oleh penurunan antara periode kolostrum dan kadar susu matur, tetapi kemudian terjadi peningkatan kadar antara awal dan puncak laktasi (Corps *et al.*, 1988). Para peneliti melaporkan peningkatan volume susu secara bersamaan selama periode ini dan memperkirakan bahwa peningkatan total produksi IGF-1 adalah sekitar empat kali lipat. Setelah ditransfer ke *kelenjar mammae*, beberapa IGF-1 dikeluarkan ke dalam susu. IGF-1 tahan terhadap proteolisis asam lambung tetapi mulai terdegradasi di usus kecil (Rao *et al.*, 1990). Kasein tampaknya melindungi IGF-1 dari degradasi dan proporsi yang signifikan tetap utuh di usus, mengkonfirmasi potensi bioaktivitas. Sebuah tinjauan multi-spesies IGF dan IGFBP dalam susu (Grosvenor *et al.*, 1993) menguraikan kemungkinan jalur generik sekresi IGF dan mengikat protein ke dalam air susu. IGF-1 dalam susu manusia berasal dari sirkulasi ibu, diangkut ke jaringan *mammae* dengan mengikat protein, dan disekresikan ke dalam susu melalui jalur *transcytotic*.

2.2.3 Peran *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) pada inflamasi saluran pencernaan neonatus

Insulin-like growth factor-1 adalah polipeptida asam amino 7,5 kDa yang disintesis terutama di hati tetapi juga disintesis di saluran pencernaan. IGF-1 ditemukan di usus janin dan susu manusia, menunjukkan perannya dalam perkembangan usus (Hormi & Lehy, 1994). Reseptor IGF-1 (IGF-1R) adalah



reseptor tirosin kinase transmembran dengan homologi struktural sesuai reseptor insulin. Aktivasi IGF-1R menyebabkan autofosforilasi dan aktivasi kaskade penyandian seperti IRS-1/ PI3K/ AKT dan jalur GRB2/ Ras/ ERK (Foulstone *et al.*, 2005). IGF-1 diatur oleh GH, insulin, dan asupan kalori (Bortvedt & Lund, 2012). IGF-1 meningkatkan proliferasi sel intestinal dan meningkatkan pertumbuhan usus (Kurokawa *et al.*, 1987; Conteas *et al.*, 1989; Duncan *et al.*, 1994; Theiss *et al.*, 2004). IGF-1 adalah mediator utama faktor trofik lainnya, yaitu GH dan GLP-2 (Lund, 1998; Woelfle *et al.*, 2003; Ersoy *et al.*, 2009). Bila oral IGF-1 diberikan kepada bayi babi, didapatkan peningkatan penyerapan nutrisi, pertumbuhan mukosa, berat usus, protein, dan DNA (Burrin *et al.*, 1996; Alexander & Carey, 1999).

Insulin-like growth factor-1 memiliki peranan penting dalam kelangsungan hidup neonatus prematur yang terbukti memiliki kadar IGF-1 serum yang rendah, terkait dengan peningkatan risiko banyak kelainan, misalnya retinopati prematuritas dan EKN. IGF-1 juga menunjukkan efek protektif selama peradangan dan apoptosis yang didorong oleh sitokin (Aikin *et al.*, 2000; Allen *et al.*, 2005). Ekspresi IGF-1 meningkat di usus pada model hewan IBD dan pada pasien dengan *Crohn's* (Theiss *et al.*, 2004). Pada model binatang sepsis dan juga pada pasien manusia, penurunan kadar IGF-1 berkorelasi dengan peningkatan translokasi bakteri. Selanjutnya, pemberian IGF-1 eksogen pada tikus dikaitkan dengan penurunan tingkat translokasi (Hunninghake *et al.*, 2010).

Stres oksidatif mengaktifkan jalur proteksi seluler *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3-K). Selain itu, pengaktifan jalur ini dapat ditingkatkan dengan pemberian IGF-1 eksogen selama EKN dan terbukti meningkatkan kelangsungan hidup sel (Radulescu *et al.*, 2005; Baregamian *et al.*, 2006; 2007). Neonatus prematur dengan kadar IGF-1 yang rendah ternyata berisiko meningkatkan kejadian EKN (Hellstrom *et al.*, 2003). Baregamian *et al.* (2011) menemukan bahwa ekspresi



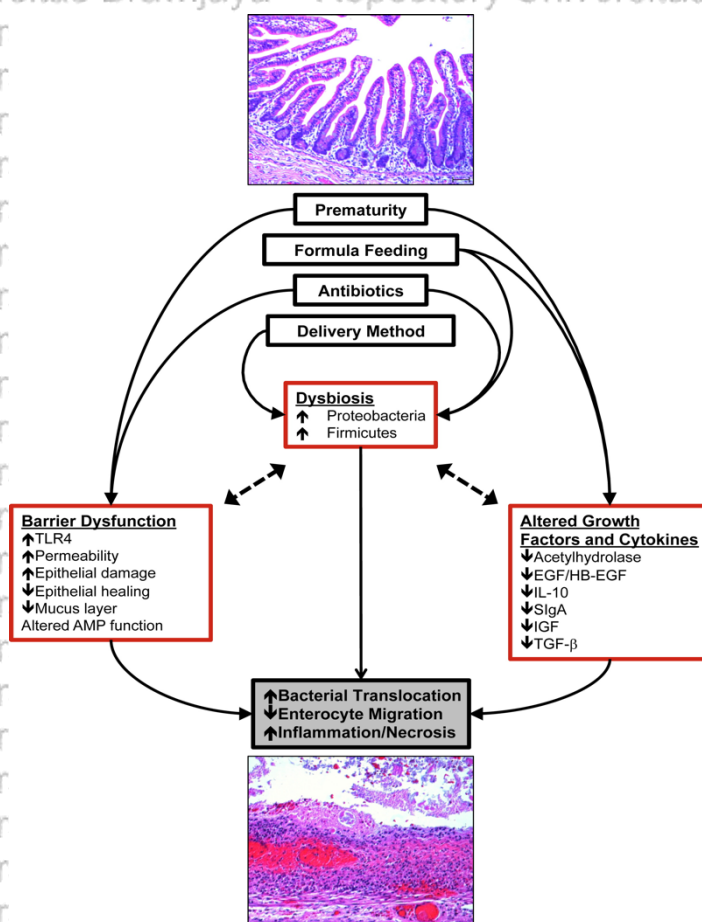
IGF-1R intestinal meningkat secara *in vivo* pada model tikus EKN seperti pada tikus *in vitro* dan garis sel usus janin manusia yang terpapar stres oksidatif.

Selain itu, peningkatan fosforilasi IGF-1R diamati pada model sel-sel epitel intestinal, sedangkan penghambatan IGF-1R menyebabkan peningkatan apoptosis seluler. Studi lain yang menggunakan model tikus hipoksia/reoksigenasi untuk EKN menemukan bahwa pemberian IGF-1 menyebabkan berkurangnya cedera usus, dengan penurunan tingkat nekrosis, dan penurunan indeks apoptosis (Ozen *et al.*, 2005).

Neonatus yang mendapatkan asupan ASI memiliki insiden penyakit terkait saluran pencernaan yang lebih rendah daripada yang mendapatkan susu formula. Selain itu, bayi yang diberi ASI menunjukkan tingkat pertumbuhan dan kematangan usus yang lebih baik (Donovan & Odle, 1994). Senyawa bioaktif di ASI kemungkinan besar bertanggung jawab atas efek protektif ini, salah satunya adalah *insulin-like growth factor* (IGF). Telah dilakukan beberapa studi untuk mengetahui efek IGF-1 pada fungsi usus halus model bayi binatang. IGF-1 selain memiliki peran sebagai faktor pertumbuhan, juga faktor anti-apoptosis (Ozen *et al.*, 2005). Efek pertumbuhan usus setelah pemberian IGF-1 secara parenteral atau subkutan pada beberapa studi dengan hewan coba telah dilakukan (Yang *et al.*, 1994; Zhang *et al.*, 1995). Beberapa penelitian lainnya, dilakukan untuk mengetahui efek pemberian enteral IGF-1 menunjukkan hasil yang beragam. Terdapat efek peningkatan pertumbuhan usus pada bayi babi, tetapi tidak didapatkan efek yang sama pada bayi tikus pada pemberian IGF-1 secara enteral (Burrin *et al.*, 1996).

Prematuritas, penggunaan antibiotik, metode persalinan (*vaginal versus cesarean*), dan pemberian susu formula dapat menyebabkan disbiosis, perubahan fungsi *barrier*, perubahan faktor pertumbuhan, dan sitokin. Terdapat hubungan timbal balik antara fungsi disbiosis-*barrier* dan disbiosis-perubahan

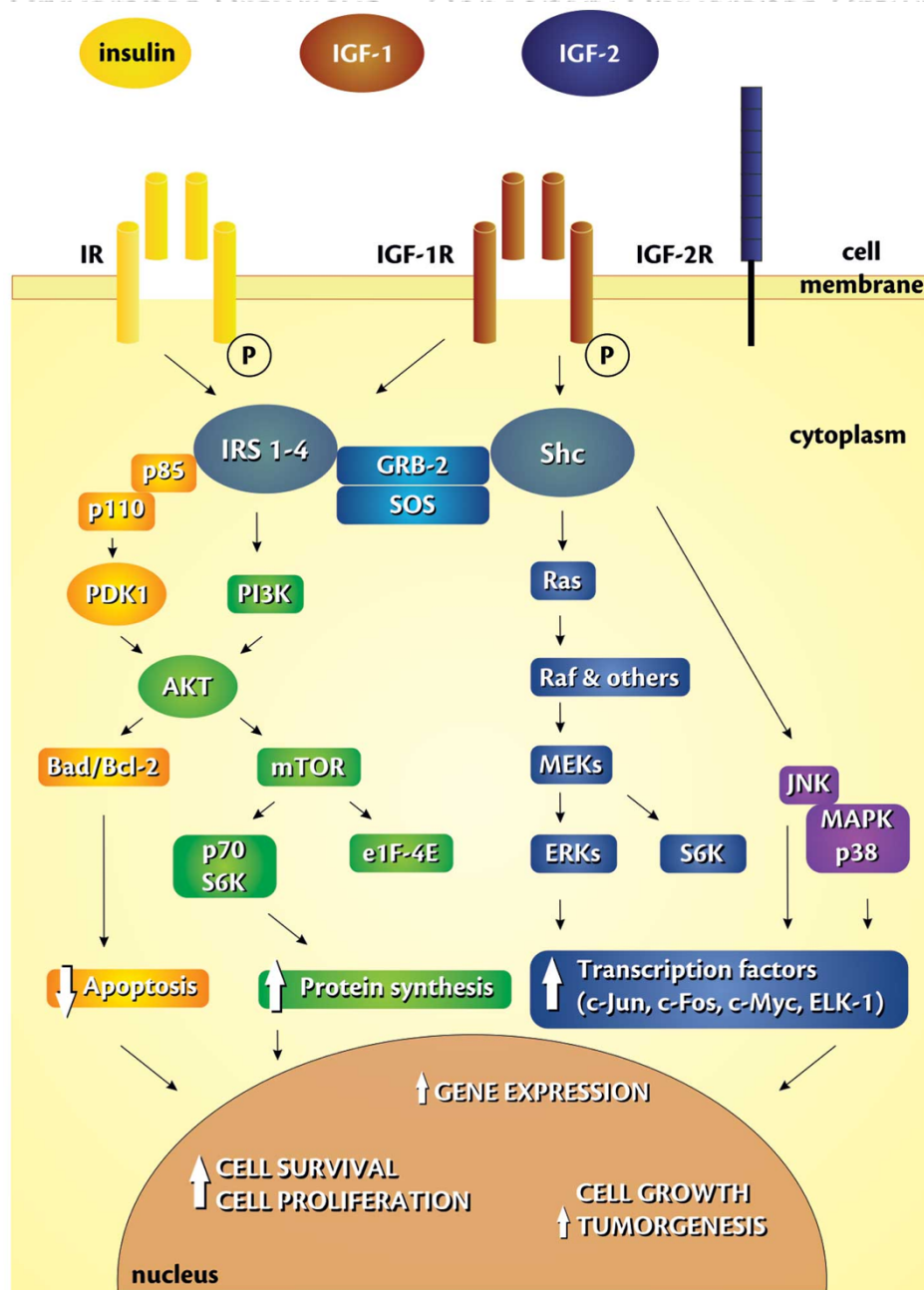
faktor pertumbuhan (*growth factors*) dan sitokin. Semua faktor ini dapat menyebabkan peningkatan translokasi bakteri, penurunan migrasi enterosit, dan peningkatan inflamasi dan atau nekrosis pada EKN; sebagaimana dibuktikan pada panel hematoxylin dan eosin (gambar 2.5), menunjukkan kerusakan otot dan epitel yang parah dengan hilangnya mukosa total. Salah satu faktor pertumbuhan yang memiliki peran penting dalam patofisiologi EKN adalah IGF (Tanner *et al.*, 2015).



Gambar 2.5 Respon imun *innate* pada enterkolitis nekrotikan

Keterangan: Prematuritas, penggunaan antibiotik, metode persalinan (*vaginal versus cesarean*), dan pemberian susu formula dapat menyebabkan disbiosis, perubahan fungsi *barrier*, dan perubahan faktor pertumbuhan dan sitokin pada patofisiologi EKN. EGF (*Epidermal Growth Factor*); HBEGF (*Heparin Bound-Epidermal Growth Factor*); IGF (*Insulin-like Growth Factor*); SIgA (*Secretory Immunoglobulin A*); TLR4 (*Toll-like receptor 4*); dan TGF (*Transforming Growth Factor*).

Dikutip dari: Tanner *et al.*, 2015.



Gambar 2.6 Jalur transduksi insulin, IGF-1, dan IGF-2

Keterangan: Insulin, IGF-1, IGF-2 berikatan dengan reseptor masing-masing IR, IGF-1R, dan IGF-2R untuk merangsang proliferasi seluler atau untuk menghambat apoptosis melalui jalur transduksi sinyal yang berbeda. **ErK** (extracellular signal-related kinase); **IGF** (insulin-like growth factor); **IGF-1R** (IGF-1 receptor); **mTOR** (mammalian TOR, target of rapamycin); **IRS** (insulin receptor substrate); **Akt** (Akt transforming); **Shc** (Src homology 2 domain-containing); **Ras** (rat sarcoma viral oncogene homolog). Dikutip dari: Tovar et al., 2010.



Insulin, IGF-1, IGF-2 berikatan dengan reseptor masing-masing IR, IGF-1R, dan IGF-2R untuk merangsang proliferasi seluler atau untuk menghambat apoptosis melalui jalur transduksi sinyal yang berbeda (Yu & Rohan 2000; Grimberg, 2003; Delafontaine *et al.*, 2004; Samani *et al.*, 2007). IGF-1R/2R adalah tirosin kinase yang mengalami autofosforilasi dan mengkatalisis fosforilasi beberapa protein seluler, termasuk anggota keluarga IRS dan molekul Shc. Setelah fosforilasi, IRS berinteraksi dengan protein pensinyalan, termasuk Akt, Ras/ Raf, MEK, dan ERK. Aktivasi jalur PI3K dan Akt menghambat apoptosis. Aksis IGF/IGF-R dapat secara positif mengontrol perkembangan siklus sel dalam banyak fase, namun efek utamanya mungkin diberikan pada G1-S, dan hal ini diperantarai melalui jalur PI-3K/Akt dan atau ERK (gambar 2.6) (Samani *et al.*, 2007; Tovar *et al.*, 2010).

2.3 Neonatus

2.3.1 Definisi

Neonatus adalah bayi baru lahir hingga 28 hari pertama kehidupan. Neonatus normal memiliki berat badan lahir 2500 gram sampai 4000 gram. Berdasarkan usia gestasinya, neonatus secara umum diklasifikasikan menjadi neonatus aterm (neonatus cukup bulan), neonatus prematur (neonatus kurang bulan), dan neonatus *post-term* (neonatus lebih bulan). *World Health Organization* (WHO), *American Academy of Pediatric* (AAP), dan *American College of Obstetrician and Gynecologist* (ACOG) mendefinisikan neonatus aterm sebagai bayi baru lahir dengan usia kehamilan 37 sampai <42 minggu, neonatus prematur sebagai bayi baru lahir dengan usia kehamilan kurang dari 37 minggu, dan neonatus *post-term* sebagai bayi bary lahir dengan usia kehamilan ≥42 minggu (Raju, 2013).



Kelahiran prematur menjadi faktor penentu utama morbiditas dan mortalitas pada neonatus serta disabilitas pada anak. Meskipun telah banyak dilakukan upaya preventif, insidens kelahiran prematur di kebanyakan negara relatif konstan. Angka kematian prematur secara global sebesar 28% dari 4 juta kematian bayi per tahun. *World Health Organization* menyebutkan sekitar 10% kelahiran menjadi prematur (Kunle-Olowu *et al.*, 2014). Beberapa faktor risiko terjadinya kelahiran prematur diantaranya; usia, perawatan antenatal, riwayat kelahiran prematur, anemia, hipertensi, dan perdarahan antepartum. Perdarahan antepartum adalah faktor yang paling signifikan yang terkait dengan kelahiran prematur. Secara garis besar faktor risiko kelahiran prematur dapat dibagi menjadi 2 yaitu faktor risiko non obstetrik dan obstetrik (Mahapula *et al.*, 2016).

2.3.2 Klasifikasi neonatus

Menurut WHO (2016), neonatus diklasifikasikan menjadi: (1) Neonatus amat sangat prematur (*extremely preterm*) adalah bayi dengan usia kehamilan <28 minggu, (2) Neonatus sangat prematur (*very preterm*) adalah bayi dengan usia kehamilan 28 sampai <32 minggu, (3) Neonatus *moderate to late preterm/mild preterm* adalah bayi dengan usia kehamilan 32 sampai <37 minggu, (4) Neonatus aterm adalah bayi dengan usia kehamilan 37 sampai <42 minggu, dan (5) Neonatus *post-term* adalah bayi dengan usia kehamilan ≥ 42 minggu.

2.3.3 Anatomi dan fisiologi usus neonatus

Pertumbuhan usus selama masa interuterin sangat pesat. Mulai usia kehamilan 5 minggu sampai dengan 40 minggu, usus mengalami proses pertumbuhan panjang 1000 kali, mencapai panjang rata-rata 275 cm saat kelahiran. Di dalam perkembangan usus intra uterin, mikrovili menutupi seluruh permukaan apical usus halus, dan permukaan usus pada masa dewasa dapat mencapai luas 2.000.000 cm². Dalam usus halus, terdapat berbagai tipe sel



(table 2.4), antara lain epitel absorpsi usus, sel Paneth (terlibat dalam sekresi defensin dan peptide yang berperan dalam imunitas alami), sel goblet (terlibat dalam sekresi mucus yang melapisi usus), dan tipe sel lainnya yang berhubungan dengan sistem neuroendokrin usus dan sistem imun (Carlson *et al.*, 2013).

Tabel 2.4 Berbagai tipe sel epitel dalam usus halus

Tipe Sel	Fungsi
Enterosit	Sel epitel kolumnar, berperan dalam absorpsi elektrolit, zat gizi dan enzim yang terlibat dalam proses metabolisme karbohidrat, protein, lemak.
Sel Goblet	Sel yang mensekresi mukus yang berfungsi melindungi mukosa usus dan berperan sebagai media organisme probiotik
Sel Paneth	Sel yang berfungsi pertahanan terhadap patogen; mensekresi peptida anti mikroba yang dapat membunuh bakteri
Sel M	Terdapat dalam <i>Peyer's patch</i> , berperan dalam perkembangan imunitas
Sel (D-, K-, I-, L-, M-, S-)	Mensekresi hormon dan peptida saluran pencernaan, sebagai respon terhadap perubahan isi saluran pencernaan

Dikutip dari: Carlson *et al.*, 2013.

2.3.3.1 Menelan cairan ketuban

Beberapa proses fisiologi berkembang selama masa janin, salah satu yang penting adalah menelan cairan ketuban. Pada triwulan ketiga, janin menelan cairan ketuban sekitar 450 ml/hari. Cairan ketuban mengandung zat gizi dan faktor pertumbuhan, namun saat terjadi kelahiran kurang bulan, cairan ini berhenti diproduksi secara mendadak (Neu *et al.*, 2008).

2.3.3.2 Tonus spinkter gastroesofageal

Tekanan esofagus paling rendah kurang lebih 4 cmH₂O pada neonatus kurang bulan dan 25 cmH₂O pada neonatus aterm. Hal ini berkaitan dengan tingginya insiden refluks gastroesofageal pada NKB (Zabielski *et al.*, 2008).



2.3.3.3 Motilitas usus

Pada NKB, pengosongan lambung lebih lambat dibandingkan neonatus aterm. Pada dewasa, kecepatan pengosongan lambung dipengaruhi oleh mekanisme umpan balik dari usus halus, sedangkan pada BBLSR dengan usia kehamilan 25-32 minggu mekanisme tersebut belum diketahui dengan jelas.

Adanya stimulasi asam, lemak, karbohidrat, triptofan, bahan osmolalitas tinggi terhadap reseptor duodenum akan menurunkan kecepatan pengosongan lambung. Kecepatan pengosongan lambung menurun oleh bahan densitas kalori tinggi, namun jumlah kalori yang dipindahkan dari lambung ke duodenum akan meningkat sesuai dengan tingkat kejenuhan formula. Perubahan osmolalitas formula isokalori dari 279 sampai 448 mOsm/kg tidak berpengaruh secara bermakna terhadap kecepatan pengosongan lambung. Kurangnya kontrol terhadap fungsi pengosongan akan berakibat terjadinya intoleransi minum dan malabsorpsi (Carlson *et al.*, 2013).

2.3.3.4 Pencernaan karbohidrat, lemak, dan protein

Pada neonatus aterm, kadar enzim pencernaan laktase, sukrase, maltase, isomaltase, glukamilase terdapat dalam jumlah cukup. Pada neonatus aterm dan kurang bulan, aktifitas amilase pankreas rendah dan membutuhkan waktu beberapa bulan untuk mencapai kadar maksimal. Pada neonatus kurang bulan, aktifitas enzim seperti sukrase, maltase dan isomaltase telah berfungsi sempurna, namun aktifitas laktase masih rendah, dan meningkat bermakna saat usia kehamilan 24 sampai dengan 40 minggu. Dari hasil penelitian, menunjukkan adanya peningkatan aktifitas laktase pada pemberian nutrisi enteral. Masih belum jelas apakah efek ASI terhadap aktifitas laktase dipengaruhi oleh lebih tingginya kadar laktose dalam ASI dibandingkan dalam susu formula. Namun bukan berarti hal tersebut menjadi alasan kontraindikasi pemberian ASI pada BBLSR (Tourneur, 2013).



Lemak merupakan 50% sumber kalori non protein yang didapat dari ASI dan susu formula. Pencernaan lemak terbagi menjadi beberapa fase antara lain fase luminal meliputi deesterifikasi dari trigliserida menjadi 3-monogliserida dan asam lemak bebas serta asam empedu (Zabielski *et al.*, 2008).

Asam empedu sangat penting untuk pencernaan lemak dan absorpsi, namun pada BBLSR proses pencernaan ini tidak dapat berlangsung optimal, dikarenakan rendahnya kadar asam empedu di duodenum. Neonatus memiliki kemampuan untuk mengubah asam lemak esensial menjadi asam lemak rantai yang lebih panjang dengan 20 atau lebih rantai karbon. Asam lemak rantai panjang yang tidak jenuh penting untuk pembentukan eikosanoid dan komponen struktural susunan saraf pusat. Asam lemak ini terdapat dalam kadar tinggi pada ASI, namun tidak terkandung dalam nutrisi parenteral total atau sebagian besar susu formula. Penambahan asam lemak rantai panjang tidak jenuh ke dalam susu formula, dapat memperbaiki perkembangan saraf. Sebagian besar asam lemak esensial berasal dari kelompok linoleik (omega 6), hal ini karena lemak yang terdapat dalam susu formula atau larutan lipid intravena berasal dari minyak sayur, yang banyak mengandung omega 6 dan bukan fraksi omega 3 (Neu *et al.*, 2008).

Pada BBLSR, sekresi asam lambung terbatas. Dalam 24-48 jam setelah kelahiran, pH dalam lambung sekitar 5,5-7,0 dan relatif resisten terhadap pentagastrin. Kadar pentagastrin basal maupun akibat stimulasi asam, meningkat 2 kali lipat dari minggu pertama sampai minggu keempat setelah kelahiran. Asam lambung dapat berfungsi sebagai penghalang mikroorganisme, sehingga yang perlu dipertimbangkan adalah penggunaan obat-obatan *anti histamin-2 blocker* yang akan menurunkan sekresi asam lambung dan dapat memicu lebih banyak bakteri pada bagian distal usus. Pada beberapa penelitian



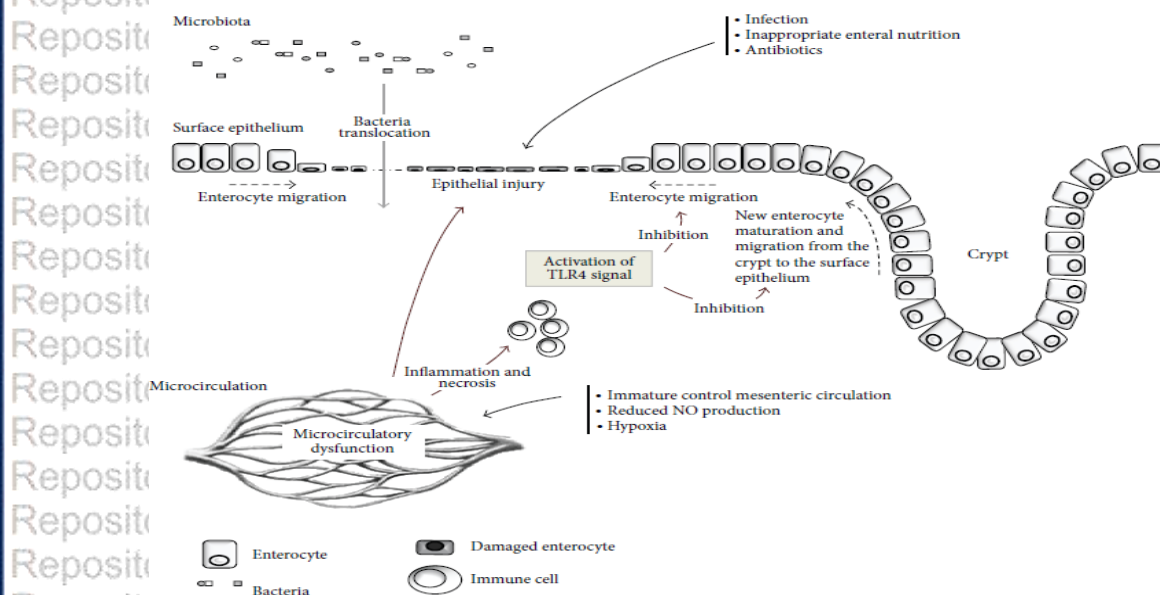
menunjukkan bahwa pemakaian *anti histamin-2 blocker* pada pasien sakit kritis akan meningkatkan insiden sepsis nosokomial (Carlson *et al.*, 2013).

2.3.3.5 Pertahanan epitel

Dalam mukosa usus pada neonatus kurang bulan, terjadi keseimbangan yang persisten antara perlukaan dan penyembuhan. *Toll-like receptor* (TLR) berperan penting dalam mekanisme perlukaan dan penyembuhan tersebut. Perlukaan mukosa usus mungkin terjadi akibat berbagai kondisi akibat prematuritas seperti hipoksia, infeksi, kelaparan. Disfungsi mikrosirkulasi mengakibatkan kerusakan epitel. Dalam kondisi fisiologis, penyembuhan epitel dimulai sesegera mungkin dengan migrasi enterosit matur dari daerah yang sehat menuju ke daerah yang mengalami luka. Kemudian, diikuti proliferasi enterosit baru di dalam kript *Lieberkuhn* yang merupakan akhir proses penyembuhan. Enterokolitis nekrotikan terjadi karena adanya inhibisi migrasi dan proliferasi enterosit, sehingga mengakibatkan host rentan terhadap perlukaan yang diikuti translokasi bakteri (gambar 2.7) (Terrin *et al.*, 2014; Brooks *et al.*, 2015).

Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya


Gambar 2.7 Peranan TLR4 dalam perlukaan epitel dan mekanisme penyembuhan

Keterangan: Beberapa faktor prenatal seperti infeksi, nutrisi enteral yang tidak tepat, penggunaan antibiotika, disfungsi mikrosirkulasi, dan hipoksia menginduksi perlukaan epitel. Hiperaktivasi TLR4 *signaling* mempengaruhi proses penyembuhan dan kemudian menyebabkan translokasi bakteri melewati pertahanan epitel.

Dikutip dari: Terrin *et al.*, 2014.

2.3.3.6 Imaturitas usus

Motilitas imatur, gangguan absorpsi, disfungsi imun, disfungsi *barrier* usus, regulasi sirkulasi merupakan faktor predisposisi terjadinya perlukaan pada usus neonatus kurang bulan (NKB). Sebagai contoh, gangguan sekresi asam lambung hanya terjadi pada NKB, dan hal ini berhubungan dengan meningkatnya risiko kejadian EKN, khususnya pada neonatus yang sekresi asam lambungnya dihambat dengan pemberian obat blokade H2 (Neu, 2011; Markel *et al.*, 2014).

Penelitian imunologi pada mukosa usus menunjukkan bahwa setelah terjadinya kolonisasi mikroba awal setelah lahir, usus beradaptasi terhadap stimulasi, dengan modifikasi pada respon imun alami epitel. Ekspresi TLR4



tampak meningkat pada sel bayi jika dibandingkan dengan sel dewasa, dan faktor regulator penting (IkB) dalam transkripsi *nuclear factor kappa B* (NF- κ B) yang mempengaruhi inflamasi, tidak terekspresi. Perbedaan antara usus janin dan neonatus cukup bulan (NCB), merupakan dasar terjadinya respon inflamasi yang tidak sesuai dan berlebihan yang kemudian berkembang menjadi enterokolitis nekrotikan (Brooks *et al.*, 2015).

Dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa enterosit pada NKB, tidak siap dengan kondisi stimulasi yang berlebihan pada kolonisasi awal. Kadar serum beberapa sitokin dan kemokin yang menarik sel inflamasi tampak lebih tinggi pada pasien dengan EKN jika dibandingkan dengan bayi kurang bulan yang sehat. Dari berbagai sitokin yang meningkat, IL-8 yang diproduksi sel epitel dan memperantarai migrasi netrofil ke sisi inflamasi dan aktivasi kemudian menyebabkan nekrosis serta meningkatkan produksi protein fase akut usus. Peningkatan IL-8 dan respon inflamasi yang berlebihan oleh enterosit berhubungan dengan kejadian EKN pada NKB (Gordon *et al.*, 2012; Maheshwari *et al.*, 2014).

2.3.3.7 Kolonisasi mikroba

Hipotesis lain adalah adanya kolonisasi mikroba yang tidak sesuai pada NKB merupakan faktor risiko terjadinya EKN, di mana EKN terjadi paling cepat 8-10 hari setelah lahir, pada saat bakteri anaerob telah berkolonisasi pada usus. Pada penelitian yang menggunakan metode molekuler untuk mengevaluasi mikrobiota feces pada neonatus sehat dan yang mengalami EKN, serta dari sampel yang didapat pada bayi sebelum dan selama mengalami EKN, menunjukkan bahwa kondisi yang terjadi berkaitan dengan spesies mikroba usus yang tidak umum dan secara keseluruhan terjadi pengurangan jenis mikrobiota, terutama pada kasus yang mendapatkan terapi antibiotik berkepanjangan.

Penurunan spesies dan keragaman mikrobiota dapat menyebabkan resistensi



kolonisasi, sehingga menurunkan fungsi perlindungan tubuh menghadapi patogen lingkungan rumah sakit yang dapat menyebabkan inflamasi usus (tabel 2.5). Disimpulkan, bahwa terjadi respon inflamasi imatur yang berlebihan dan berkaitan dengan mikrobiota usus, menjadi dasar patogenesis terjadinya EKN (Athalye-Jape *et al.*, 2012; Gordon *et al.*, 2012; Markel *et al.*, 2014).

Tabel 2.5 Beberapa patogen yang berhubungan dengan terjadinya EKN pada neonatus

Bacteria species	Virus	Fungi
<i>Escherichia coli</i> [25]	<i>Rotavirus</i> [26]	<i>Candida albicans</i> [27]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> [28]	<i>Adenovirus</i> [29]	<i>Candida glabrata</i> [27]
<i>Klebsiella</i> [30]	<i>Norovirus</i> [31]	<i>Aspergillus fumigatus</i> [32]
<i>Cronobacter sakazakii</i> [33]	<i>Astrovirus</i> [34]	
<i>Shigella boydii</i> [35]	<i>Echovirus</i> [36]	
Coagulase-negative <i>Staphylococcus</i> [37]	<i>Cytomegalovirus</i> [7]	
<i>Clostridium spp.</i> [38]	<i>Coxsackie virus</i> [39]	
<i>Campylobacter</i> [40]	<i>Torovirus</i> [41]	
<i>Enterobacter cloacae</i> [42]	<i>Coronavirus</i> [43]	
<i>Salmonella</i> [44]		

Dikutip dari: Terrin *et al.*, 2014.

2.3.4 Patofisiologi neonatus prematur

Kematian pada neonatus prematur 8 kali lebih besar daripada bayi normal. Prognosis akan lebih buruk lagi bila berat badan makin rendah. Neonatus prematur sering lahir dengan kondisi yang mengancam jiwa. Beberapa kondisi dapat ditangani melalui perawatan intensif neonatal yang tepat sedangkan lainnya dapat menyebabkan cacat atau penyakit jangka panjang. Masalah kesehatan yang sering terjadi pada neonatus prematur umumnya dialami karena sistem organ yang masih belum matang (Mahapula *et al.*, 2016).

Masa neonatus ditandai dengan pertumbuhan dan perubahan fisik yang cepat disertai dengan perubahan dalam kebutuhan zat gizi. Berat badan bayi baru lahir dapat turun hingga 10% di bawah berat badan lahir pada minggu pertama disebabkan oleh ekskresi cairan ekstrasvaskular yang berlebihan dan



kemungkinan masukan intake kurang. Berat bayi harus bertambah atau melebihi berat badan lahir pada saat berumur 2 minggu dan harus bertambah kira-kira 30 g/hari selama bulan pertama (WHO, 2015).

Tatalaksana untuk neonatus BBLR harus dilakukan sedini mungkin sejak bayi masih berada di *neonatal intensive care unit* (NICU). Hal terpenting dalam perawatan dini neonatus BBLR di NICU adalah pemberian nutrisi yang adekuat sehingga terjadi peningkatan berat badan pada neonatus BBLR. Pada neonatus BBLR, intervensi nutrisi yang paling optimal, yang dapat mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan otak, adalah nutrisi protein tinggi post-natal secara cepat. Hal ini dapat diperoleh dengan *total parenteral nutrition* (TPN) dan air susu ibu (ASI) terfortifikasi untuk membatasi *extrauterin growth restriction* dan untuk mengejar pertumbuhan *post-term* (Damayanti *et al.*, 2015).

Besarnya energi tambahan yang dibutuhkan untuk mengejar pertumbuhan adalah 90-100 kkal/kg/hari. Asupan parenteral yang dibutuhkan dihitung dari rasio tambahan setelah menghitung tambahan pengeluaran energi yang tidak dapat dihindarkan (*inevitable losses*) dari konversi diet protein untuk protein tubuh. *Inevitable losses* dari nitrogen diperkirakan sebesar 160 mg/kg/hari, setara dengan protein sebesar 1 g/kg/hari. Pengeluaran energi dari istirahat diperkirakan sebesar 45 kkal/kg/hari pada neonatus, dan pengeluaran energi untuk paparan dingin dan aktivitas fisik diperkirakan sebesar 15 kkal/kg/hari (Damayanti *et al.*, 2015).

Air susu ibu sangat bermanfaat karena di dalamnya terdapat kandungan nutrisi yang penting seperti *long chain polyunsaturated fatty acids* (LC-PUFA) dan faktor-faktor neurotropik lainnya. Selain itu ASI juga dapat menurunkan risiko infeksi, *necrotizing enterocolitis*, dan alergi, dan memiliki efek positif untuk perkembangan kognitif. Neonatus juga mendapatkan keuntungan dengan



adanya kontak langsung dengan ibu saat menyusui, sehingga dapat meningkatkan kestabilan psikologi (Nzegwu & Ehrenkranz, 2014).

Secara umum, masalah yang terjadi pada prematur dan BBLR terbagi menjadi jangka pendek yang terjadi pada periode neonatal dan jangka panjang.

Prematur dan BBLR meningkatkan risiko morbiditas dan mortalitas seperti terjadinya hipoglikemia, problem *feeding*, *jaundice*, hipotermia, dan risiko sepsis dibandingkan dengan neonatus lahir cukup bulan (Natile *et al.*, 2014). Masalah jangka pendek dikaitkan dengan kesulitan adaptasi neonatus terhadap lingkungan di luar uterus yang berhubungan dengan belum matangnya sistem organ tubuh, antara lain:

2.3.4.1 Ketidakstabilan suhu

Neonatus kurang bulan mempunyai kesulitan untuk mempertahankan suhu tubuh akibat peningkatan hilangnya panas, kurangnya lemak subkutan, rasio luas permukaan terhadap berat badan yang besar dan kegagalan termoregulasi. Pada neonatus ini selama perawatan di ruang neonatologi termoregulasi dilakukan di inkubator dan tidak didapatkan instabilitas suhu sebagai salah satu tanda sepsis (Von Beckerath *et al.*, 2013).

2.3.4.2 Sistem pernapasan

Permasalahan yang biasa dihadapi prematur yaitu belum matangnya sistem organ tubuh dan kesulitan beradaptasi terhadap lingkungan di luar uterus. Morbiditas pada sistem pernafasan pada prematur dapat berupa *respiratory distress syndrome* (RDS)/ *hyaline membrane disease* (HMD), *transient tachypnea of the newborn*, pneumonia, dan gagal napas (Natile *et al.*, 2014).

2.3.4.3 Sistem neurologis

Neonatus prematur memiliki risiko untuk terjadi masalah neurologi akut seperti perdarahan intrakranial. Neonatus prematur rawan mengalami hipoksia, sehingga berisiko terjadinya perdarahan intrakranial. Perdarahan intrakranial



lebih sering terjadi pada prematur dengan berat <1.500 gram atau usia kehamilan <34 minggu. Perdarahan intrakranial yang paling sering terjadi adalah intraventrikular dan intraserebral. Selain oleh karena proses hipoksia, perdarahan intrakranial juga bisa disebabkan rapuhnya pembuluh darah di matrik germinal (Von Beckerath *et al.*, 2013).

2.3.4.4 Sistem kardiovaskular

Pada kelahiran prematur kematangan semua organ belum tercapai dengan baik sehingga dapat menyebabkan gangguan misalnya jantung. Penyakit jantung bawaan (PJB) adalah permasalahan pada struktur jantung yang tampak setelah kelahiran namun juga bisa dievaluasi sejak dalam kandungan. Kelainan ini dapat melibatkan bagian dalam dinding jantung, katup di dalam jantung, atau ke seluruh tubuh. Prevalensi kelahiran neonatus dengan PJB telah dilaporkan, dari 6,9/1.000 kelahiran di Eropa dan 9,3/1.000 di Asia. Insiden PJB dilaporkan 8-10 dari 1.000 kelahiran di hampir setiap negara. Di Indonesia, tingkat kelahiran adalah 4 juta per tahun. Sehingga kejadian PJB telah di perkirakan 32–42 ribu per tahun (Endah, 2013).

2.3.4.5 Sistem hematologi

Neonatus prematur memiliki risiko yang lebih besar untuk terjadi anemia dan hiperbilirubinemia. Penurunan hemoglobin biasanya dimulai sejak neonatus berumur sekitar 1-2 minggu, berlangsung terus sampai batas terendah pada umur 2-3 bulan kemudian berangsur naik kembali. Terlebih lagi apabila neonatus mengalami sepsis maka risiko untuk terjadi anemia semakin besar. Neonatus kurang bulan lebih besar kemungkinan untuk mengalami ikterus dikaitkan dengan peningkatan produksi bilirubin karena umur eritrosit yang lebih pendek, eritropoiesis yang tidak efektif serta belum matangnya fungsi hepar. Neonatus kurang bulan yang sakit memiliki kemungkinan untuk mengalami keterlambatan



dalam memulai nutrisi enteral, mengakibatkan peningkatan sirkulasi enterohepatik (Karolina, 2011).

2.3.4.6 Sistem gastrointestinal

Pada prematur terjadi motilitas usus yang menurun, pengosongan lambung yang tertunda, pencernaan dan absorpsi vitamin yang larut lemak berkurang, serta defisiensi enzim laktase pada *brush border* usus. Prematuritas merupakan salah satu faktor risiko terjadinya enterokolitis nekrotikan (EKN) (Karolina, 2011).

2.3.4.7 Masalah metabolik

Gangguan metabolisme yang sering terjadi pada prematur adalah gangguan metabolisme glukosa khususnya hipoglikemia yang dikaitkan dengan rendahnya produksi atau cadangan glukosa (Karolina, 2011).

2.3.4.8 Sistem genitourinarius

Karakteristik dari ginjal imatur adalah rendahnya laju filtrasi glomerulus dan ketidakmampuan menangani kelebihan cairan yang terlalu banyak (Karolina, 2011).

2.3.4.9 Sistem imunologi saluran pencernaan

Neonatus kurang bulan memiliki risiko lebih besar terjadinya infeksi karena belum matangnya respon imun baik humoral maupun seluler. Disregulasi dari sistem imun ini akan membuat gangguan saluran pencernaan yang dimulai dalam bentuk inflamasi saluran pencernaan yang akan menjadi penyulit pada neonatus prematur, contohnya turunnya toleransi minum akibat inflamasi saluran pencernaan dan jika berkelanjutan akan menjadi berbagai macam masalah seperti sepsis dan enterokolitis nekrotikan (Melville, 2013).

Pertahanan usus yang belum matang pada neonatus prematur telah terbukti dapat matang setelah lahir. Beberapa faktor dapat menginduksi pematangan usus post-natal terkait *barrier* termasuk diet, faktor pertumbuhan



epidermal, glukokortikoid endogen, dan bakteri komensal. Bakteri komensal, dikenal untuk menginduksi ekspresi protein *tight junction* yang dapat memperkuat *barrier*. Dengan demikian, neonatus dengan kolonisasi bakteri abnormal atau tertunda dari usus dapat meningkatkan risiko inflamasi usus terkait *barrier* usus yang belum matang sehingga memungkinkan masuknya mikroba, produk mikroba, atau racun dari lumen usus ke sistemik. Setelah lahir, kolonisasi usus dengan mikroba dari saluran lahir dan lingkungan terjadi dalam 24 jam. Bayi prematur pada umumnya dilahirkan melalui operasi caesar dan tidak selalu menerima ASI segera setelah lahir. Dengan tidak adanya sumber-sumber utama kolonisasi mikroba tersebut, mikroorganisme yang merugikan dapat berproliferasi. Selain itu, penghalang usus pada neonatus lebih permeabel, sebagian memungkinkan antibodi yang berasal dari kolostrum masuk ke dalam sirkulasi bayi. Struktur intraseluler yang mengatur permeabilitas usus, *tight junction* (TJ) dan *adherens junction* (AJ), serta komponen *barrier* lain yang memainkan peran dalam integritas usus telah terbukti mengalami perubahan pada keadaan inflamasi (Halpern & Denning, 2015).

Segara setelah pembentukan AJC, *barrier* epitel mulai mengembangkan *barrier* fisik dan kimia dengan memproduksi defensin, lisozim serta lapisan gel musin. Sel paneth dapat dideteksi saat usia gestasi 12 minggu dan mulai menghasilkan defensin anti mikroba pada 13 minggu serta lisozim pada 20 minggu. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa sel-sel Paneth mengalami defisiensi dalam jumlah maupun fungsi pada neonatus prematur usia gestasi 24 minggu (Halpern & Denning, 2015).

Reseptor sel T (TCR) $\gamma\delta$ ($\gamma\delta$ IEL) telah terbukti direkrut lebih awal pada usus prematur (dengan usia kehamilan 24 minggu), hal ini dimaksudkan untuk meningkatkan fungsi *barrier* sementara penghalang epitel belum matang.

Ekspresi musin dapat dideteksi sejak usia kehamilan 6,5 minggu dengan terus



mengalami pematangan sepanjang kehamilan (Halpern & Denning, 2015). Adapun imaturitas *barrier* intestinal pada prematur dan efek yang ditimbulkan seperti pada tabel 2.6.

Tabel 2.6 Imaturitas *barrier* intestinal pada neonatus prematur

Komponen <i>barrier</i> intestinal	Waktu maturasi	Efek imaturitas pada neonatus prematur
<i>Epithelial Apical Junctional Complex</i> (AJC)	Struktur matur pada usia kehamilan 12 minggu (<i>in utero</i>) Fungsi matur pada <i>at term</i>	Meningkatkan permeabilitas intestinal Kemampuan absorpsi yang belum matang Kemampuan sekresi yang belum matang
Sel paneth	Terdeteksi pada usia kehamilan 12 minggu. Kemampuan sekresi pada usia kehamilan 13-20 minggu	Penurunan jumlah Penurunan kemampuan sekresi (Kuranganya peptida antimikroba yang diperlukan untuk mengatur kolonisasi usus)
Musin (sel goblet)	<i>Aterm</i>	<i>Immature mucus layer</i> memberikan kesempatan bakteri untuk kontak dengan epitel intestinal (kurangnya <i>barrier</i> protektif)
<i>Intestinal epithelial lymphocyte</i> (IEL)	Subset reseptor sel T (TCR) $\gamma\delta$ dikeluarkan awal saat usia kehamilan 24 minggu	Rekrutmen awal dibutuhkan untuk meningkatkan fungsi <i>barrier</i> yang belum matang (penting untuk mencegah translokasi bakteri, meningkatkan fungsi TJ, mengatur inflamasi, dan meningkatkan perbaikan epitel)

Dikutip dari: Halpern & Denning, 2015.



2.4 Human Beta Defensin-2 (HBD-2)

2.4.1 Definisi defensin

Defensin adalah peptida kaya sistein, peptida kationik dengan struktur lembaran β -pleated yang distabilkan oleh tiga ikatan disulfida intramolekul antara residu sistein. Defensin mamalia diklasifikasikan dalam tiga subfamili, α -, β - dan θ -*defensin*, yang berbeda dalam distribusi dan hubungan disulfida (ikatan) antara enam residu sistein. Hubungan disulfida residu sistein dalam defensin pada α -defensin adalah antara residu sistein pertama dan keenam (Cys1-Cys6), Cys2-Cys4, dan Cys3-Cys5, sedangkan pada β -defensin adalah Cys1-Cys5, Cys2-Cys4, dan Cys3-Cys6. Sebaliknya, θ -defensin memiliki struktur melingkar dengan residu sistein yang dihubungkan sebagai Cys1-Cys6, Cys2-Cys5, dan Cys3-Cys4 (Klotman *et al.*, 2016).

Human α -defensin-1, -2, -3 dan -4 merupakan peptida neutrofil manusia (HNP-1, HNP-2, HNP-3, dan HNP-4) karena diproduksi terutama oleh neutrofil. HNP-1, HNP-2, dan HNP-3 disintesis oleh promielosit, yang merupakan sel prekursor neutrofil di sumsum tulang, dan peptida matur disimpan sebagai *primary granule of neutrofil*. *Teta-defensin* terdiri dari dua peptida α -defensin-like *precursor* dari sembilan asam amino yang dihubungkan oleh ligasi post-translasi kepala-ke-ekor. Kontribusi struktur defensin terhadap fungsi defensin berbeda berdasarkan fungsinya. Sebagai contoh, ikatan disulfida tidak diperlukan untuk fungsi antibakteri dari HNP-1 dan *human β -defensin-3 (HBD-3)*. Namun, memiliki ikatan disulfida yang penting untuk aktivitas kemotaksis pada HBD-3 (Klotman *et al.*, 2016).

Di antara peptida anti mikroba alami, *human beta defensin (HBD)* merupakan kontributor paling penting pada kekebalan host (Nicolau *et al.*, 2017). Berdasarkan analisis gen, telah teridentifikasi 28 jenis *human β -defensin*, dimana enam *human β -defensin (HBD-1, -2, -3, -4, -5, dan -6)* diekspresikan terutama



oleh sel epitel. Sedangkan HBD-1 secara konstitutif diekspresikan oleh sel epitel, ekspresi HBD-2 dan HBD-3 dapat diinduksi oleh virus, bakteri, produk mikroba (misalnya endotoksin), dan sitokin pro-inflamasi, seperti *tumor-necrosis factor* (TNF) dan interleukin-1 β (IL-1 β) (Klotman *et al.*, 2016).

HBD-1, HBD-2, dan HBD-3 semuanya telah terdeteksi di berbagai jaringan sel epitel, meskipun mekanisme induksi ekspresi mereka sebagai respons terhadap produk mikroba telah terbukti berbeda satu sama lain. Ekspresi HBD-1 dan HBD-2 terdeteksi pada monosit, makrofag, dan sel dendritik monosit (DC), yang menunjukkan bahwa HBD-1 dan HBD-2 tidak secara eksklusif bersentuhan dengan epitel. Baik *human defensin α - dan β* ditemukan pada ASI yang mengindikasikan peran *defensin* dalam melindungi bayi dari infeksi (Klotman *et al.*, 2016).

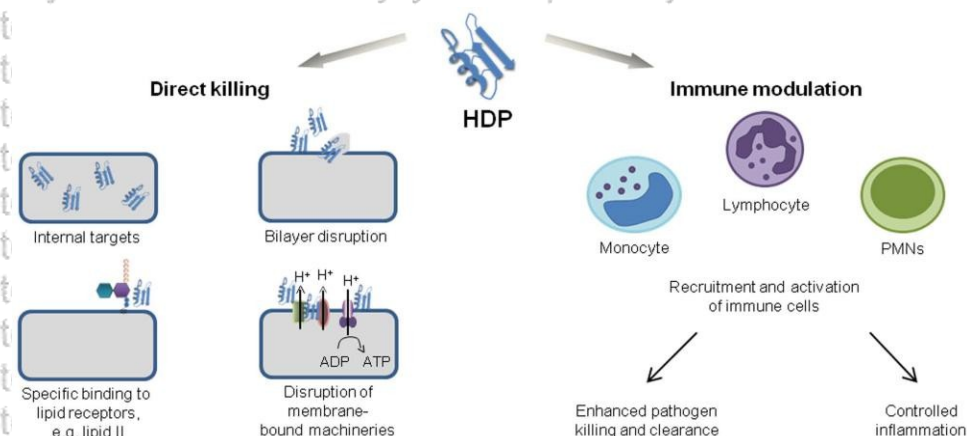
Tabel 2.7 Distribusi dan sumber *beta defensin*

Defensin	Distribusi jaringan	Sumber	Sintesa dan regulasi
HBD-1	Mukosa oral dan nasal, Paru-paru, Plasma, Kelenjar ludah, Usus kecil dan besar, Lambung, Kulit, Mata, Kelenjar susu, Ginjal, Traktus urogenital	Sel epitelial Monosit, Makrofag <i>Monocyte-derived dendritic cell</i> , Keratinosit	Konstitutif atau dapat diinduksi sebagai respons terhadap interferon- γ , lipopolisakarida, dan peptidoglikan
HBD-2 dan HBD-3	Mukosa oral dan nasal, Paru paru, Plasma, Kelenjar ludah, Usus kecil dan besar, Lambung, Kulit, Mata, Kelenjar susu, Ginjal, Traktus urogenital	Sel epitelial Monosit, Makrofag <i>Monocyte-derived dendritic cell</i> , Keratinosit	Dapat diinduksi sebagai respon terhadap virus, bakteri, lipopolisakarida, peptidoglikan, lipoprotein, sitokin (IL-1 β , TNF), dan <i>growth factor</i>
HBD-4	Antrum gaster, Testes	Sel epitelial	Dapat diinduksi sebagai respon terhadap PMA (<i>phorbol 12-myristate 13-acetate</i>) dan bakteri

Dikutip dari: Klotman *et al.*, 2016.

2.4.2 Fungsi human defensin

Peptida anti mikroba (AMP) termasuk salah satunya defensin dianggap sebagai agen terbaik untuk mengatasi infeksi baik membunuh bakteri secara langsung maupun dalam modulasi respon imun. Semua organisme multiselular memproduksi AMP untuk proteksi permukaan maupun jaringan dari invasi bakteri (gambar 2.8) (Ulm *et al.*, 2012).



Gambar 2.8 Peptida anti mikroba (AMP). AMP dianggap sebagai agen ideal untuk anti infeksi karena menggabungkan aktivitas membunuh bakteri secara langsung dan modulasi respons imun.

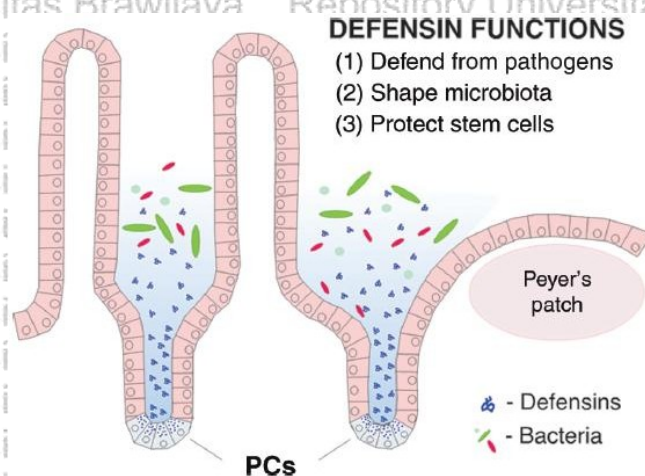
Dikutip dari: Ulm *et al.*, 2012.

Defensin memiliki motif struktural yang sama, sistein menstabilisasikan struktur $\alpha\beta$ yang tersusun dari α heliks dan dihubungkan pada lembar β anti paralel dengan tiga atau empat ikatan disulfida dan memberikan aktivitas sebagai anti virus, anti jamur, atau anti bakteri. Baru-baru ini, telah ditunjukkan bahwa *defensin* berperan sebagai anti bakteri dan anti jamur terkait dengan afinitas terhadap prekursor dinding sel bakteri lipid II. Mereka membentuk *equimolar stoichiometric complex* dengan lipida II, sehingga menghambat penggabungan blok dinding dinding sel ke dalam jaringan peptidoglikan.

Defensin dengan afinitas tinggi terhadap lipid II berfungsi terutama melawan



bakteri gram positif, sedangkan *defensin* dengan afinitas lipid II rendah berperan mempertahankan kemampuan untuk berinteraksi dengan target tambahan dan oleh karena itu memiliki spektrum anti mikroba yang lebih luas, termasuk bakteri gram negatif atau jamur. *Human beta defensin* mengaktifkan sel antigen profesional (monosit, sel dendritik) melalui TLRs-1 dan -2 dimana akan merangsang respons imun adaptif. Berbagai defensin merekrut sel kekebalan tubuh dengan mengikat langsung reseptor kemokin (CCRs). *Human beta defensin* menunjukkan fungsi *chemoattractant* untuk sel dendritik yang belum matang, monosit/ makrofag, dan sel mast (gambar 2.9) (Ulm *et al.*, 2012).



Gambar 2.9 Fungsi defensin dalam saluran pencernaan. Sekresi defensin dari sel paneth (PC), usus kecil memiliki jari-seperti vili yang berisi sekelompok PC kaya defensin di bagian bawahnya. Granul dari PC memiliki konsentrasi pro-defensin tinggi bersama dengan PC tripsin. Setelah PC degranulasi, disebabkan oleh masuknya bakteri ke dalam lumen usus, tripsin mengaktifkan defensin membentuk perlindungan pada sel-sel induk epitel usus.

Dikutip dari: Ulm *et al.*, 2012.



2.4.3 Human beta defensin-2 pada inflamasi saluran pencernaan neonatus

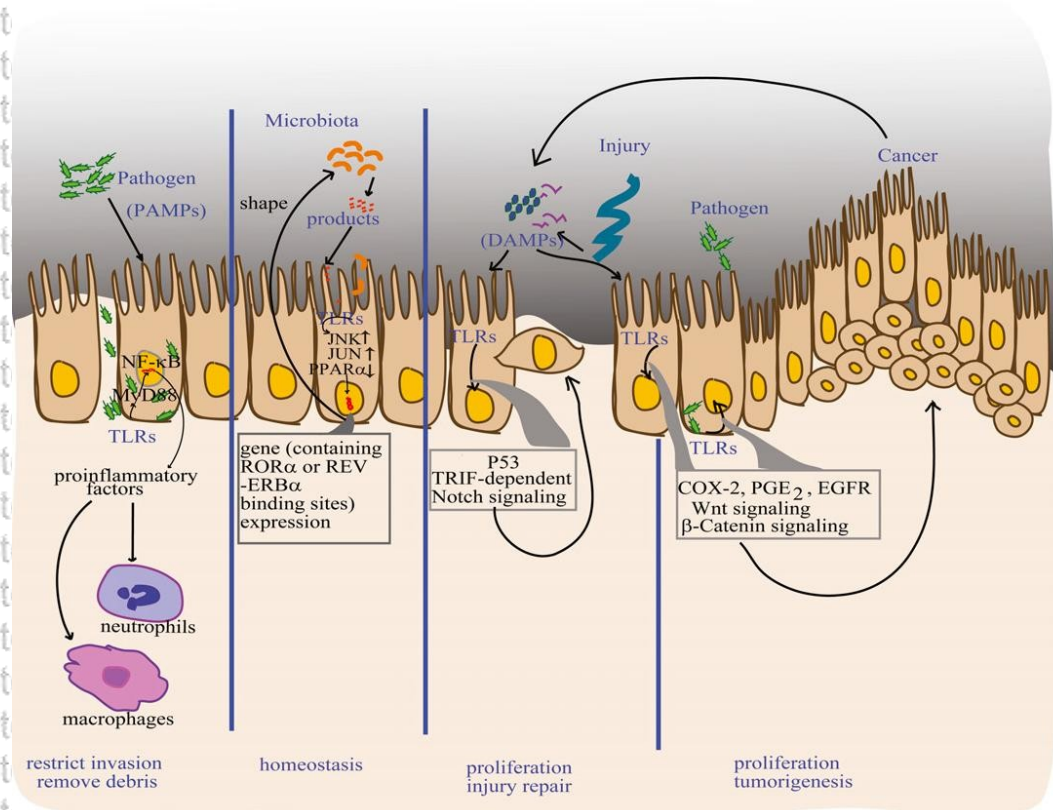
Mukosa usus yang belum matang rentan terhadap respons berlebihan pro-inflamasi, yang dapat meningkatkan risiko patologi inflamasi di usus neonatal. Selama kehamilan, *T helper-2* berperan mencegah reaksi imunologis yang merugikan antara ibu dan janinnya. Dengan demikian, usus neonatal yang belum matang, dibandingkan usus matang, mengandung lebih sedikit sel T total. Gen-gen pro inflamasi bawaan, seperti *nuclear transcription factor kB* (NFkB), *myeloid differentiation primary response 88* (MYD88), *toll-like receptor* (TLR) 2, TLR4, dan *TNF receptor associated factor* (TRAF), terlalu banyak diekspresikan, dan umpan balik negatif gen regulator tidak terekspresikan, sehingga mukosa neonatal terlalu sensitif terhadap infeksi bakteri dan alergi makanan (He Y *et al.*, 2016).

Toll-like receptor adalah reseptor pengenalan pola utama dari sistem kekebalan bawaan dan mengenali berbagai macam pola molekuler terkait patogen (PAMPs) yang diproduksi oleh mikroorganisme. Setelah mengenali dan mengikat PAMP spesifik, masing-masing TLR memulai mekanisme peradangan melalui NF-kB. Sinyal ini menghasilkan sekresi faktor pro inflamasi yang selanjutnya menginisiasi berkumpulnya sel kekebalan tubuh, neutrofil, dan makrofag, sehingga pada akhirnya mengarah pada patogen infeksi (gambar 2.10). Pola molekuler terkait patogen (PAMP) pada bakteri komensal memiliki struktur yang berbeda dengan PAMP patogen; tidak hanya ditolerir oleh TLRs, namun pengenalan TLR terhadap mikroflora komensal diperlukan untuk homeostasis usus (He Y *et al.*, 2016).

Toll-like receptor mampu mengenali *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) yang merupakan sinyal endogen dari jaringan yang rusak,



DAMP akan berikatan dengan TLR4 dan mengaktifkan p53/MYD88-independent pathway yang memediasi proliferasi kriptas, mempromosikan penyembuhan luka. Ekspresi TLR dan aktivasi jalur sinyal TLR merupakan target terapeutik potensial untuk pengobatan penyakit inflamasi (He Y et al., 2016).



Gambar 2.10 Peran penting Toll-like receptor (TLR) dalam inflamasi mukosa gastrointestinal. Sinyal TLR memediasi fungsi biologis utama pada epitel mukosa.

PAMPs dari patogen mengikat TLR dan mengaktifkan MYD88-dependent pathway, merangsang sekresi proinflamasi, dan merekrut sel imun ke tempat infeksi, di mana sel imun akan menghilangkan debris seluler dan mencegah invasi kembali. Melalui TLRs, bakteri mengendalikan ekspresi gen sel epitel, dan produk sel epitel membentuk komposisi mikrobiota. TLRs mengenali DAMPs, yang merupakan molekul sinyal yang dilepaskan saat terjadi cedera sel dan oleh sel kanker. DAMPs mengaktifkan TLRs dan jalur pensinyalan p53/ TRIF-dependent notch, yang akan mempromosikan proliferasi sel epitel.

Dikutip dari: He Y et al., 2016.



Bayi prematur mengekspresikan konsentrasi TLRs yang lebih tinggi dibandingkan bayi aterm, hal ini dikaitkan dengan risiko sepsis neonatus atau EKN yang lebih tinggi. Seperti telah dijelaskan sebelumnya, susu manusia mengandung peptida bioaktif, termasuk defensin yakni *human beta defensin-2* yang dapat mempengaruhi sinyal TLR dan menampilkan aktivitas anti mikroba luas terhadap bakteri patogen. *Human beta defensin-2* dapat berasal dari air susu ibu dan mukosa, dimana pelepasan *human beta defensin-2* dari mukosa dipicu oleh *hyaluronan* ASI. *Human beta defensin-2* berperan meningkatkan pertahanan epitel intestinal TLR4/CD44 yang bergantung pada patogen. Misalnya, konsentrasi *human beta defensin-2* yang rendah dikaitkan dengan konsentrasi antigen TLR4/ limfosit yang lebih rendah dan kejadian EKN yang lebih berat (Lane *et al.*, 2013). Selain itu, *human beta defensin-2* ASI juga berperan menekan ekspresi TLR7 pada sel induk payudara dan kolon. *Toll-like receptor -7*, yang diproduksi dalam endosom, dirangsang oleh RNA untai tunggal dan memediasi sinyal yang menyebabkan pelepasan IFN pada infeksi virus. Ekspresi TLR7 yang tinggi terjadi pada model tikus serupa dengan EKN (Jenke *et al.*, 2012). Berbeda dengan *human beta defensin* lainnya, *human beta defensin-2* terdiri dari beberapa reseptor terhadap *nuclear factor kB* (NF-kB) yang berperan pada respon transkripsional terhadap LPS dan sitokin pro-inflamasi. *Nuclear factor kB* (NF-kB) diketahui memiliki fungsi sebagai elemen yang poten berespon terhadap TNF dan dapat mengintegrasikan informasi dari penghantaran sinyal imun adaptif dan *innate* sebagai respon terhadap perlukaan maupun invasi mikroorganisme (Liu *et al.*, 2009).

Selain terkait dengan TLR7, mekanisme anti mikroba dari *beta defensin* diprakarsai oleh daya tarik elektrostatis antara peptida anti mikroba kationik dan membran mikroba elektronegatif. Membran mikroba sebagian besar didasarkan pada stoikiometri dan arsitektur fosfolipidnya. Misalnya, membran bakteri kaya



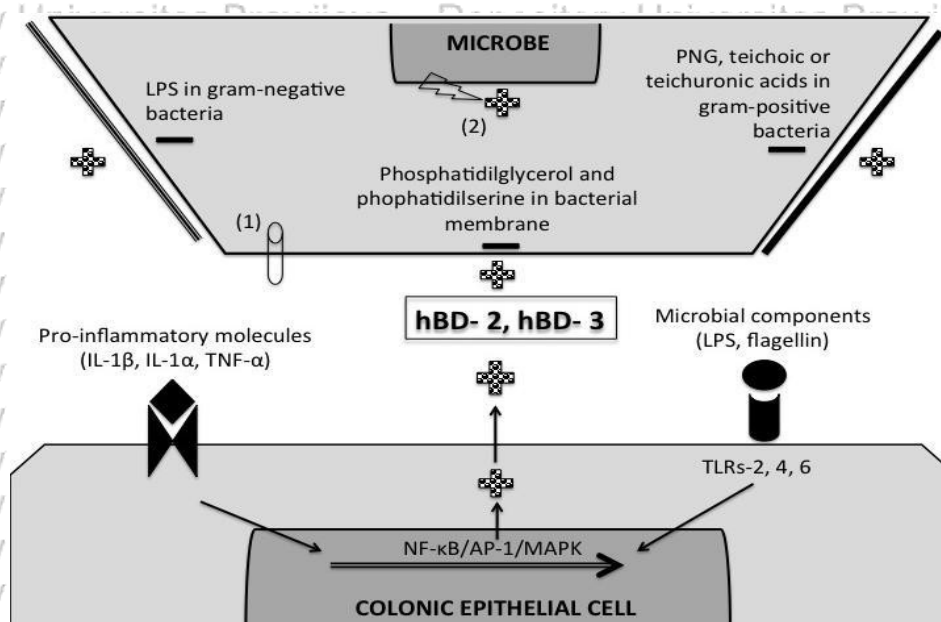
akan asam fosfolipid fosfatidilgliserol dan fosfatidilserine. Selain itu, LPS dari bakteri gram negatif dan asam *teichoic* atau *teichuronic* dari bakteri gram positif, memberikan muatan negatif tambahan pada permukaan bakteri (gambar 2.11). Sebaliknya, membran bilayer mamalia inang *less attracting* untuk peptida anti mikroba karena kaya akan fosfatidiletanolamin, fosfatidilkolin, dan sphingomielin serta pada umumnya bersifat netral. Afinitas elektrostatik ini memungkinkan peptida anti mikroba untuk secara cepat melokalisasi dan menumpuk di tempat-tempat infeksi, karena afinitasnya terutama pada target permukaan mikroorganisme daripada jaringan inang. Dengan demikian, dalam rentang tertentu, peningkatan kationisitas peptida dikaitkan dengan peningkatan potensi anti mikroba meskipun interaksi peptida yang terlalu kuat dengan fosfolipid dapat menurunkan aktivitas anti mikroba dengan mencegah translokasi peptida ke dalam sel (Cobo & Chadee, 2013).

Setelah daya tarik elektro, permukaan hidrofobik dari *amphipathic antimicrobial peptides* dimasukkan ke dalam lapisan lipid dan mengisi rantai arginin berikatan dengan lipid polar untuk membentuk saluran trans-membran. Masuknya peptida kationik ke dalam inti membran sasaran memprovokasi *dysmetry* yang berlebihan dan *remodeling* fosfolipid pada membran mikroba. Setelah translokasi fosfolipid atau relaksasi pori-pori, *beta defensin* diangkut dari ekstrasel ke dalam membran sitoplasma. Setelah itu, interaksi antara *beta defensin* dan permukaan mikroba menyebabkan kebocoran ion dan metabolit, kemudian terjadi depolarisasi, gangguan integritas sintesis peptidoglikan dan akhirnya terjadi kematian sel. Kematian mikroba dapat didahului oleh perubahan permeabilitas membran karena akumulasi peptida pada permukaan target yang menginduksi perpindahan fosfolipid dan/atau pengurangan sifat *barrier*. Menariknya, peptida anti mikroba juga dapat merusak mikroba dengan mekanisme non-membranolitik, termasuk mengikat asam nukleat muatan negatif



kuat dan penghambatan langsung sintesis asam nukleat. Dengan demikian, tidak jelas apakah permeabilisasi membran saja cukup untuk menyebabkan kematian sel atau disebabkan oleh gangguan proses intraselular (Liu *et al.*, 2009; Cobo & Chadee, 2013).

Aktivitas anti-mikroba dari *beta defensin* mempengaruhi beberapa infeksi pada usus. HBD-2 terbukti sangat efektif dalam membunuh bakteri enterik gram negatif *E. Coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* serta *Candida albicans*, namun hanya bersifat bakteristatik terhadap gram positif *Staphylococcus aureus*. Seperti dijelaskan sebelumnya, perlu dipertimbangkan bahwa kemampuan anti mikroba *beta defensin* *in vivo* bergantung pada konsentrasi ionik dan adanya komponen bawaan lain di *niche* dimana terjadi interaksi antara peptida patogen dan anti mikroba (misalnya di dasar kriptus). Konsentrasi sodium klorida yang tinggi mengganggu efek anti mikroba dari HBD-2 terhadap *E. Coli*. Hal ini disebabkan oleh karena adanya *competitive inhibition* dimana terjadi peningkatan kekuatan ionik anion dan kation zat terlarut melawan muatan polipeptida kationik dan permukaan mikrobial anionik sehingga mengurangi daya tarik mikroba (Cobo & Chadee, 2013).



Gambar 2.11 Gambaran skematik mekanisme *beta defensin* menginduksi *microbial killing*.

Sitokin pro-inflamasi (misalnya, IL-1 β , IL-1 α , dan TNF- α) dan komponen mikroba [misalnya, lipopolisakarida (LPS) dan peptidoglikan (PGN)] mampu menginduksi ekspresi *beta defensin-2* pada sel epitel kolon melalui reseptor spesifik (misalnya IL-1R, TNF-R dan TLR) dan jalur pensinyalan (NF- κ B/AP-1/MAPK). Dilepaskannya kationik *beta defensin-2* (+) mengikat membran mikroba bermuatan negatif (-). Muatan negatif membran mikroba disebabkan oleh adanya fosfatidilgliserol dan phophatidilserin. Selain itu, bakteri gram negatif mengandung LPS dan bakteri gram positif PNG, asam *teichoic* atau *teichuronic* yang memberikan lebih banyak lagi muatan negatif pada membran bakteri. Interaksi antara membran *beta defensin-2* dan mikroba dapat menyebabkan kematian mikroba dengan permeabilitas membran karena pembentukan pori (1), dan/atau dengan mengubah sinyal intraseluler dan menghambat sintesis asam nukleat (2). Daftar patogen yang rentan terhadap β -defensin-killing mencakup berbagai macam bakteri dan protozoa (misalnya *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, *Bifidobacterium spp*, *Lactobacillus spp*, *Cryptosporidium parvum*, dan *Toxoplasma gondii*).

Dikutip: Cobo & Chadee, 2013.

Di sisi lain, kehadiran lisozim dan laktoferin meningkatkan kemampuan anti mikroba hBD-2 terhadap *E. Coli*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* dan *S. aureus*. Secara keseluruhan, hal ini menunjukkan bahwa aktivitas anti mikroba dari HBD-2 penting dalam melindungi epitel usus dari patogen jahat dan dalam



mengatur mikrobiota komensal (Cobo & Chadee, 2013). Selain itu, kemampuan HBD-2 untuk menghambat TLR juga mengarahkan pada hipotesis bahwa HBD-2 dalam susu manusia dapat menurunkan risiko peradangan gastrointestinal pada bayi termasuk kejadian EKN (Liu *et al.*, 2009).

Selain berperan untuk mengeliminasi paparan mikroba dan mengurangi reaksi inflamasi berlebihan, dalam penelitian Otte *et al.*, 2008 menunjukkan peran HBD-2 dalam *intestinal wound healing*, HBD-2 tidak mengubah viabilitas sel epitel intestinal (IEC) maupun proliferasi sel, tetapi memengaruhi migrasi enterosit yang merupakan salah satu hal penting dalam penyembuhan luka pada intestinal. Paparan IEC pada HBD-2 menghasilkan reorganisasi *stress fibres* yang merupakan hal penting dalam proses migrasi sel. Selama terjadinya inflamasi, TRAIL (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*) mengaktifkan *caspase cascade* pada lumen intestinal yang mengakibatkan lesi epitel. Penelitian ini membuktikan bahwa HBD-2 secara signifikan mampu menurunkan TRAIL yang menginduksi apoptosis pada IEC, sehingga dapat mengurangi apoptosis enterosit. Lebih dalam lagi dijabarkan HBD-2 mampu memproduksi musin yang berperan dalam pertahanan epitel intestinal serta mampu memperbaiki sel akibat apoptosis yang telah terjadi (Otte *et al.*, 2008).

2.4.4 Human beta defensin-2 sebagai biomarker feses

Biomarker merupakan substansi endogen maupun eksogen yang terukur dalam darah, urin maupun feses. Biomarker digunakan untuk membedakan kondisi patologis dan sebagai salah satu sarana monitoring pengobatan untuk menilai keberhasilan terapi. Identifikasi berbagai biomarker feses memberikan informasi mengenai lingkungan saluran pencernaan. Sebagian besar penanda ini terkait dengan sistem kekebalan tubuh bawaan intestinal. Imunitas bawaan intestinal berperan dalam menjaga keseimbangan yang baik antara toleransi terhadap bakteri komensal dan respon imun terhadap



patogen potensial. Sistem pertahanan ini merupakan sistem yang kompleks, terdiri dari beberapa elemen, termasuk peptida anti mikroba (misalnya: defensin, katelidin, laktoferin, dan osteoprotegerin), protein inflamasi (misalnya: kalprotektin dan S100A12), dan produk mikroba (misalnya: asam lemak rantai pendek). Disfungsi komponen dapat menyebabkan perkembangan penyakit intestinal, dan penyakit yang berbeda dikaitkan dengan peningkatan biomarker feses yang berbeda. Setiap biomarker feses memberikan informasi tentang proses biologis dari penyakit tertentu. Oleh karena itu, kuantifikasi feses dari biomarker ini dapat dijadikan sebagai metode non-invasif untuk menentukan jalur potensial penyakit dan dapat membantu dalam penilaian serta diagnosis berbagai kondisi gastrointestinal (Pang *et al.*, 2014).

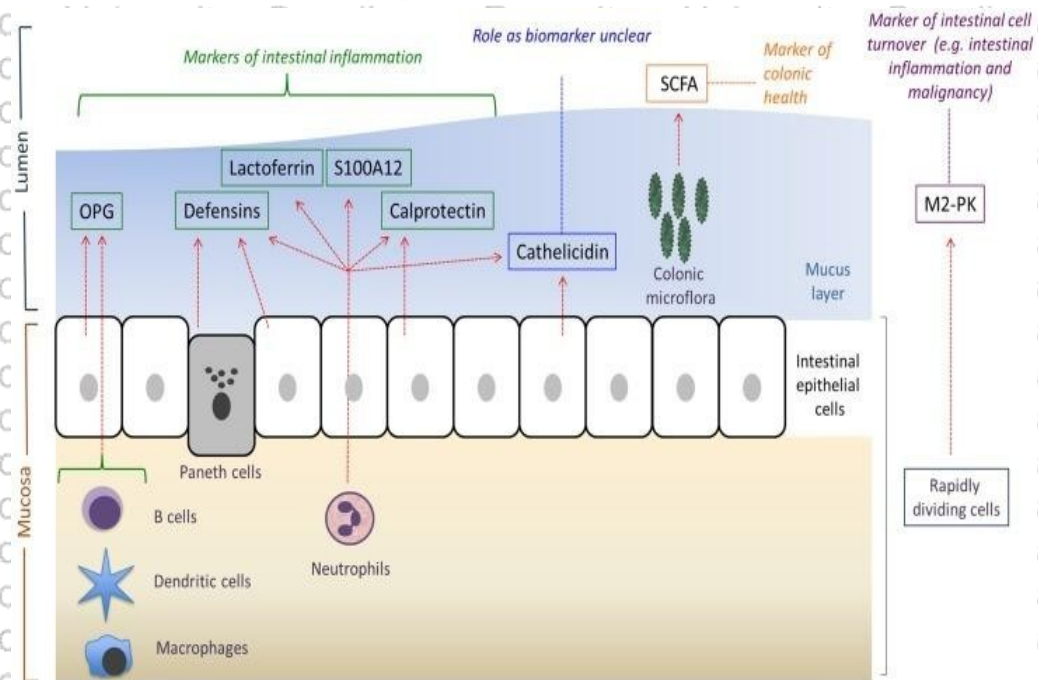
Berdasarkan klinis biomarker feses dapat dibagi menjadi: (a) biomarker *inflammatory bowel disease*, berhubungan dengan *inflammation related protein* yang diproduksi selama proses inflamasi pada pencernaan, contoh: kalprotektin atau *antimicrobial peptida*; (b) Biomarker kanker kolorektal, berhubungan dengan *undifferentiated tissue and cell* yang mengalami peningkatan ekspresi dan *rapid turnover*, contoh: *M2-pyruvate kinase*; (c) biomarker evaluasi malabsorpsi, berhubungan dengan partikel makanan yang tidak dicerna, contoh: *fecal fat globule*, enzim (alfa1 antitripsin, elastase); (c) biomarker penyakit pencernaan terkait alergi, berhubungan dengan manifestasi alergi maupun parasit pada saluran pencernaan; (d) biomarker *gut health*, untuk menilai integritas protein saluran pencernaan dan produk fermentasi mikrobial yang merupakan hasil produksi fermentasi partikel makanan oleh bakteri, contoh: *short chain fatty acid* (Siddiqui *et al.*, 2017).

Sistem kekebalan tubuh bawaan usus terdiri dari beberapa elemen, yang masing-masing berkontribusi pada keseimbangan yang baik antara toleransi terhadap bakteri komensal dan respon terhadap patogen potensial.



Epitel gastrointestinal khususnya, secara terus-menerus terpapar oleh mikroflora usus dalam jumlah besar namun mampu mempertahankan *barrier* fisik terhadap rangsangan eksogen dan memungkinkan masuknya nutrisi. Permukaan mukosa ditutupi oleh lapisan mukus, yang mengandung berbagai peptida anti mikroba (AMP) seperti osteoprotegerin (OPG), defensin, dan katelsidin serta mikrobiota komensal, bersama-sama membentuk garis pertahanan pertama melawan patogen (gambar 2.12) (Pang *et al.*, 2014). Jika *barrier* mukosa tidak mampu melawan patogen, sel-sel imun seperti neutrofil dan makrofag berperan sebagai sumber perlindungan kedua melalui protein inflamasi. Telah banyak hipotesis bahwa disbiosis yang dihasilkan akibat disfungsi salah satu komponen sistem kekebalan tubuh dapat menyebabkan invasi bakteri secara bertahap, peradangan, dan hilangnya toleransi terhadap bakteri usus (Siddiqui *et al.*, 2017). Studi *cross sectional* terhadap 44 neonatus prematur menunjukkan perbedaan kadar HBD-2 feses yang bermakna berdasarkan pola pemberian asupan enteralnya, hasil studi di RSCM ini juga memberikan hasil didapatkan kadar HBD-2 feses yang lebih tinggi pada kelompok neonatus prematur yang mendapatkan asupan susu formula saja, dihubungkan dengan peningkatan risiko inflamasi saluran pencernaan pada kelompok ini (Corebima *et al.*, 2019).

Beberapa peptida teridentifikasi pada mekonium dan feses neonatus selama minggu pertama kehidupan, hal ini diduga berhubungan dengan keterlibatan peptida tersebut sebagai pertahanan saluran pencernaan untuk melawan infeksi (Campeotto *et al.*, 2010). Defensin merupakan pertahanan lini pertama dalam melawan infeksi dengan menginduksi interaksi antara imunitas alami dan adaptif pada bayi baru lahir. Penelitian sebelumnya menunjukkan adanya peningkatan HBD-2 pada mukosa kolon yang mengalami inflamasi (Pang *et al.*, 2014).



Gambar 2.12 Potensi penggunaan biomarker feses. Identifikasi berbagai AMP usus, protein inflamasi, dan produk bakteri telah memberikan informasi potensial mengenai ekosistem usus dengan menggunakan metode non-invasif seperti kuantifikasi feses.

Dikutip dari: Pang *et al.*, 2014.

Penelitian yang dilakukan oleh Campeotto *et al.*, 2010 menunjukkan bahwa *human beta defensin-2* sangat mudah diukur dan selalu terdeteksi pada feses bayi baru lahir dan menunjukkan pertahanan dalam minggu pertama kehidupan. Setelah usia 2 minggu level *human beta defensin-2* terlihat berbeda pada bayi prematur dan aterm yang berhubungan dengan kejadian infeksi pencernaan.

**Keterangan:**

American Academy of Pediatrics (AAP) merekomendasikan air susu ibu (ASI) lebih superior dibandingkan susu formula untuk pemberian asupan enteral pada neonatus prematur (AAP, 2012). Keuntungan dari pemberian ASI yang dikutip dari AAP adalah berkurangnya angka kejadian enterokolitis nekrotikan (EKN), sepsis, mortalitas, meningkatkan toleransi pemberian makan, pencapaian awal pemberian makanan enteral secara penuh, pertumbuhan dan perkembangan susunan saraf dalam jangka panjang yang lebih baik (AAP, 2012; Denning & Maheshwari, 2013).

Prematuritas menjadi faktor penentu utama morbiditas dan mortalitas pada neonatus. *World Health Organization* menyebutkan sekitar 10% kelahiran menjadi prematur (WHO, 2012; Kunle-Olowu *et al.*, 2014). Infeksi pada saluran pencernaan neonatus termasuk enterokolitis nekrotikan (EKN), merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas pada neonatus, dengan angka kematian mencapai 20-50%.

Konsumsi ASI memberikan kekebalan pasif pada saluran pencernaan neonatus melalui sejumlah besar faktor kekebalan tubuh yang terkandung. Komposisi protein, faktor imunitas, *growth factors*, dan sitokin pada ASI bervariasi dan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti usia ibu, cara persalinan, fase laktasi, volume susu yang dihasilkan, merokok, indeks massa tubuh, paritas, dan infeksi ibu (Bishara *et al.*, 2009; Bachour *et al.*, 2012; Hassiotou *et al.*, 2013; Dizdar *et al.*, 2014). Banyak dari parameter maternal ini juga merupakan faktor risiko yang terkait dengan kelahiran prematur (Goldenberg *et al.*, 2008). ASI mengandung zat-zat bioaktif yang melindungi bayi terhadap infeksi, inflamasi, dan berkontribusi pada kematangan sistem imun, perkembangan sistem organ, dan kolonisasi flora normal yang mendukung maturitas usus pada bayi baru lahir, karena ASI berkontribusi pada fungsi



pertahanan (*barier*) saluran pencernaan, melalui peran *growth factors* dan sitokin. Beberapa komponen dalam ASI ini terbukti mengurangi kejadian inflamasi pada neonatus, antara lain; *growth factors* (*epidermal growth factor*, *insulin-like growth factor*, *heparin-binding EGF-like growth factor*, *erythropoietin*), AMP (*Human Defensin*, PDC213), *polyunsaturated fatty acids* (PUFA), dan probiotik (Bishara *et al.*, 2009; Bachour *et al.*, 2012; Hassiotou *et al.*, 2013; Dizdar *et al.*, 2014). *Growth factors* dalam ASI yang sampai saat ini belum didapatkan banyak hasil penelitian terperinci pada neonatus prematur, tetapi diketahui memiliki peran signifikan pada maturitas usus bayi adalah *insulin-like growth factor-1* (IGF-1).

Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) adalah hormon trofik dengan berat molekul 7,5 kDa, yang merupakan stimulator poten dalam pertumbuhan proliferasi baik dengan menginduksi mitosis dan pertumbuhan hipertrofi dengan merangsang proses anabolik, seperti transportasi glukosa, *uptake* asam amino, dan sintesis protein (Sara & Hall 1990). IGF-1 memiliki kadar yang lebih tinggi pada sekresi prepartum dan kolostrum tetapi menurun tajam selama 2-4 hari pertama menyusui (Donovan *et al.*, 1992). IGF-1 memiliki peranan penting dalam kelangsungan hidup neonatus prematur, pada neonatus yang memiliki kadar IGF-1 serum rendah, didapatkan peningkatan risiko retinopati prematuritas dan EKN (Ballard & Morrow, 2013). Tetapi, masih sedikit hasil penelitian klinis yang menunjukkan kadar IGF-1 pada neonatus prematur dalam tahapan laktasi.

Pemberian IGF-1 eksogen pada tikus dikaitkan dengan penurunan tingkat translokasi (Hunninghake *et al.*, 2010). Stres oksidatif mengaktifkan jalur proteksi seluler *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3-K). Selain itu, pengaktifan jalur ini dapat ditingkatkan dengan pemberian IGF-1 eksogen selama EKN dan terbukti meningkatkan kelangsungan hidup sel (Baregamian *et al.*, 2006; 2007).

Neonatus prematur dengan kadar IGF-1 yang rendah, berisiko meningkatkan



kejadian EKN (Hellstrom *et al.*, 2003). Infeksi saluran pencernaan termasuk EKN, merupakan salah satu penyebab kesakitan utama pada neonatus prematur, namun diagnosis definitif untuk menegakkan infeksi tersebut merupakan hal yang sulit (Avula *et al.*, 2017). Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk menurunkan angka morbiditas dan mortalitas akibat infeksi saluran pencernaan yakni adanya pemeriksaan biomarker non-invasif, yang mampu mendeteksi dini inflamasi saluran pencernaan sebelum munculnya gejala klinis. Biomarker feses menjadi salah satu pilihan pemeriksaan yang non-invasif dan diharapkan mampu merefleksikan inflamasi serta kondisi patologis spesifik pada intestinal (Campeotto *et al.*, 2010; Pang *et al.*, 2014). Beberapa peptida teridentifikasi pada mekonium dan feses neonatus selama minggu pertama kehidupan, salah satunya *human defensin* (Campeotto *et al.*, 2010). *Human defensin* yang disekresi pada epitel saluran pencernaan, berhubungan dengan reaksi inflamasi yakni *human beta defensin-2* (HBD-2). HBD-2 memiliki efek protektif selama peradangan dan apoptosis, serta mampu menstimulasi perbaikan epitel saluran pencernaan (Otte *et al.*, 2008).

Penelitian kadar HBD-2 feses pada neonatus prematur dihubungkan dengan riwayat pemberian nutrisi enteral masih terdapat hasil yang bertentangan, sedangkan penelitian yang membuktikan kadar IGF-1 sebagai *growth factors* pada ASI neonatus prematur masih terbatas; termasuk penelitian yang membuktikan perbedaan dan hubungan antara kadar IGF-1 ASI dari ibu dengan neonatus prematur dengan kadar HBD-2 feses neonatus prematur sebagai biomarker inflamasi. Berdasarkan temuan-temuan klinis tersebut, penelitian tentang kadar *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) ASI transisi dan kadar *human beta defensin-2* (HBD-2) feses neonatus terhadap luaran klinis neonatus dilakukan.



3.2 Hipotesis Penelitian

1. Terdapat perbedaan kadar IGF-1 ASI transisi dari ibu dengan neonatus aterm dan neonatus prematur (*extremely preterm, very preterm, mild preterm*).
2. Terdapat korelasi antara kadar IGF-1 ASI transisi dengan usia kehamilan ibu.
3. Terdapat perbedaan kadar IGF-1 ASI transisi terhadap luaran klinis neonatus.
4. Terdapat perbedaan kadar HBD-2 feses neonatus aterm dan neonatus prematur (*extremely preterm, very preterm, mild preterm*).
5. Terdapat korelasi antara kadar HBD-2 feses neonatus dengan usia kehamilan ibu.
6. Terdapat perbedaan kadar HBD-2 feses neonatus terhadap luaran klinis neonatus.
7. Terdapat korelasi antara kadar IGF-1 ASI transisi dengan HBD-2 feses neonatus aterm dan neonatus prematur (*extremely preterm, very preterm, mild preterm*).



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif menggunakan rancangan studi *cross sectional*. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui kadar *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) ASI transisi dan kadar *human beta defensin-2* (HBD-2) feses pada neonatus aterm dan prematur terhadap luaran klinis neonatus.

4.2. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Penelitian dilakukan di ruang neonatologi Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Saiful Anwar (RSSA) serta Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Dilaksanakan sekitar 3 bulan, yaitu mulai Bulan Juni sampai Bulan Agustus Tahun 2019 atau sampai jumlah sampel terpenuhi.

4.3. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi target penelitian yaitu pasangan ibu dengan neonatus aterm (usia kehamilan 37 sampai <42 minggu) atau neonatus prematur (usia kehamilan <37 minggu). Populasi terjangkau adalah pasangan ibu dan neonatus yang dirawat di ruang neonatologi RSSA pada Bulan Juni-Agustus Tahun 2019.

Teknik pengambilan sampel dengan *consecutive sampling*, memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ASI transisi (hari ke-10 pasca persalinan) dari ibu dengan neonatus aterm atau



prematur dan feses neonatus aterm atau prematur, yang mendapatkan asupan ASI.

4.3.1 Estimasi besar sampel

Ukuran sampel dalam penelitian dihitung berdasarkan rumus besar sampel Federer sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$(n-1)(3) \geq 15$$

$$(n-1)(3) \geq 15$$

$$n = 6$$

di mana n = besar sampel minimum

t = jumlah kelompok studi

Jadi banyaknya sampel tiap kelompok studi minimal 6 sampel.

4.3.2 Kriteria inklusi sampel penelitian

1. Pasangan ibu dan neonatus aterm yang dirawat di ruang neonatologi atau rawat gabung RSSA dan mendapatkan nutrisi ASI.
2. Pasangan ibu dan neonatus prematur yang dirawat di ruang neonatologi RSSA dan mendapatkan nutrisi ASI.
3. Neonatus aterm atau prematur yang tidak didiagnosis klinis sebagai asfiksia neonatorum, tanpa kelainan kongenital atau kelainan bedah pada saluran pencernaan.
4. Ibu mengijinkan bayinya diikutsertakan dalam penelitian setelah diberikan penjelasan (*informed consent*).



4.3.3 Kriteria eksklusi sampel penelitian

1. Neonatus aterm atau prematur dengan diagnosis klinis asfiksia neonatorum dan kelainan kongenital atau kelainan bedah pada saluran pencernaan.
2. Ibu tidak mengijinkan bayinya diikutsertakan dalam penelitian setelah diberi penjelasan (tidak ada *informed consent*).

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel bebas

- Pasangan ibu dengan neonatus aterm atau prematur.
- Diit ASI.

4.4.2 Variabel tergantung

- Kadar *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) ASI transisi.
- Kadar *human beta defensin-2* (HBD-2) feses neonatus aterm atau prematur.

4.5 Kelayakan Etik

Penelitian ini telah disetujui oleh tim kelayakan etik Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Saiful Anwar Malang dengan keterangan kelayakan etik no. 400/21/K.3/302/2018.

4.6 Definisi Operasional

4.6.1 Neonatus aterm

Neonatus aterm adalah neonatus dengan usia kehamilan 37 sampai <42 minggu.



4.6.2 Neonatus prematur

Neonatus prematur adalah neonatus dengan usia kehamilan kurang dari 37 minggu, yang diklasifikasikan dalam tiga kelompok; *mild preterm* (32 sampai <37 minggu), *very preterm* (28 sampai <32 minggu), dan *extremely preterm* (<28 minggu).

4.6.3 Air susu ibu (ASI)

Air susu ibu adalah suatu emulsi lemak dalam larutan protein, laktosa dan garam-garam organik yang disekresi oleh kedua belah kelenjar dari payudara yang berguna sebagai makanan bayi. Sampel ASI dikumpulkan dari ibu dengan neonatus prematur atau aterm pada hari ke-10 pasca persalinan (sampel ASI transisi).

4.6.4 *Insulin-like growth factor-1* (IGF-1) ASI

Insulin-like growth factor-1 adalah besarnya kadar IGF-1 pada ASI transisi dari ibu dengan neonatus prematur atau aterm, yang dihitung dengan teknik pemeriksaan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) menggunakan *human insulin-like growth factor-1 quantitative ELISA kit*. Satuan kadar IGF-1 yang diperoleh adalah ng/ml dengan skala data numerik.

4.6.5 *Human beta defensin-2* (HBD-2) feses

Human beta defensin-2 feses adalah besarnya kadar HBD-2 pada feses neonatus prematur atau aterm, yang dihitung dengan teknik pemeriksaan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) menggunakan *human beta defensin-2 ELISA kit*. Satuan kadar *human beta defensin-2* yang diperoleh adalah ng/ml dengan skala data numerik.



4.7 Alat dan Bahan

4.7.1 Alat

Alat pengambilan sampel: sarung tangan, spuit, spatula, botol kaca tempat penampung ASI dan feses. Alat penunjang ELISA: *microplate*, mikropipet, *tissue*, *refrigerator*, *ELISA reader*, *shaker*, *timer*, *sentrifuge*.

4.7.2 Bahan

Microtiter wells (IGF-1 dan HBD-2), *conjugate*, antibodi (IGF-1 dan HBD-2), *assay buffer concentrate*, larutan standar, *tracer*, *wash buffer concentrate*, *streptavidin-peroxidase*, substrat TMB, *stop solution*, *neutralizing reagent*, ASI transisi, dan feses neonatus prematur atau aterm.

4.8 Metode

4.8.1 Pengambilan sampel ASI

Sampel ASI dikumpulkan pada hari ke-10 pasca persalinan (ASI transisi) yang memenuhi kriteria inklusi. Sampel ASI dikumpulkan secara manual dengan cara pemerah payudara ibu bergantian kanan dan kiri oleh ibu sendiri di ruang neonatologi RSSA atau di rumah. Sebelum pemerah ASI, ibu diminta untuk membersihkan payudara dan mencuci tangan prosedur 6 langkah cuci tangan standar WHO, yang telah diajarkan oleh peneliti (a. tuang cairan sabun pada telapak tangan kemudian usap dan gosok kedua telapak tangan secara lembut dengan arah memutar; b. usap dan gosok juga kedua punggung tangan secara bergantian; c. gosok sela-sela jari tangan hingga bersih; d. bersihkan ujung jari secara bergantian dengan posisi saling mengunci; e. gosok dan putar kedua ibu jari secara bergantian; f. letakkan ujung jari ke telapak tangan kemudian gosok perlahan).



Sampel ASI dimasukkan dalam botol kaca yang disediakan oleh peneliti sebanyak ± 50 ml. Botol kaca yang sudah terisi ASI perah akan diberikan kode oleh peneliti dan disimpan dalam kontainer khusus ASI berisi *ice pack* untuk menjaga kestabilan suhu ASI, dan selanjutnya dikirim ke Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, dalam waktu < 4 jam untuk disimpan di lemari pendingin sampel ASI dengan suhu -20°C sebelum dilakukan analisis. Pada suhu $< -4^{\circ}\text{C}$, sampel ASI dapat bertahan sampai 12 bulan.

4.8.2 Prinsip pemeriksaan kadar *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) air susu ibu (ASI) dengan ELISA

Kadar IGF-1 ASI dapat diukur dengan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) menggunakan *human insulin-like growth factor-1 quantitative ELISA kit*. Sampel ASI disentrifus pada 1.000G selama 10 menit untuk memisahkan lemak pada ASI. Sampel fase *aqueous* diaktivasi dengan 1N HCl dan kemudian dinetralisasi dengan 1,2N NaOH/0,5M HEPES. Sampel kemudian dilarutkan dengan *calibrator diluent*. Dengan menggunakan *human insulin-like growth factor-1 quantitative ELISA kit* (R&D System, Minneapolis, MN), kadar IGF-1 pada ASI diukur sesuai instruksi pabrikan. Prinsip pengujian ini menggunakan teknik *immunoassay* enzim kompetitif. Pelat mikrotiter yang disediakan dalam kit ini telah dilapisi dengan antibodi kambing anti-kelinci. Standar atau sampel ditambahkan ke sumur pelat mikrotiter yang sesuai dengan antibodi yang spesifik untuk IGF-1 dan *horseradish peroxidase* (HRP) yang terkonjugasi IGF-1. Reaksi penghambatan kompetitif terjadi antara IGF-1 berlabel HRP dan IGF-1 tanpa label dengan antibodi. Larutan substrat ditambahkan ke dalam sumur dan intensitas warna yang terbentuk berlawanan dengan kadar IGF-1 dalam sampel. Intensitas warna diukur dengan spektrofotometri pada 450 nm. Intensitas warna yang muncul sesuai dengan



kadar IGF-1. Dengan menggunakan standar larutan IGF-1 yang kadarnya telah diketahui, maka kadar IGF-1 dalam sampel ASI yang diperiksa dapat diketahui pula.

4.8.3 Pengambilan sampel feses

Sampel diambil dari feses pada hari ke-10 pasca persalinan, yang memenuhi persyaratan pengambilan, antara lain tabung tempat sampel feses bersih serta pengiriman dalam waktu kurang dari 1 jam dan dikirimkan dengan menggunakan wadah khusus yang dapat menjaga suhu stabil.

4.8.4 Prinsip pemeriksaan kadar *human beta defensin-2* (HBD-2) feses dengan ELISA

Kadar HBD-2 feses dapat diukur dengan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) menggunakan *human beta defensin-2 ELISA kit*.

Kadar HBD-2 feses dapat diukur jika sampel telah dilakukan homogenisasi dan diekstrak dengan *buffer* ekstraksi yaitu; 0,1 M Tris, 0,15 M NaCl, 1,0 M urea, 10 mM CaCl₂, 0,1 M asam sitrat monohidrat, 5 g/L BSA, dan 0,25 mM thimerosal (Ph 8.0). Sejumlah 10 cc *buffer* ditambahkan untuk setiap 1 mg sampel, kemudian dikocok menggunakan vorteks selama 10 menit dan disentrifus pada suhu 4°C selama 20 menit sampai diperoleh supernatan dengan perbandingan 0,01 mg (10.000 ng) setiap 1 cc. Hasil ekstraksi dapat disimpan pada suhu -20°C sampai saat dianalisis dengan metode ELISA.

Prinsip pengujian menggunakan teknik *immunoassay* enzim kompetitif. Pelat mikrotiter yang disediakan dalam kit ini telah dilapisi dengan antibodi "penangkap", semua *non-specific binding site* pada permukaan diblokir, kemudian larutan standar atau sampel berisi antigen dimasukkan ke dalam plate mikrotiter. Plate dicuci untuk membuang kelebihan antigen yang tidak terikat.

Antibodi primer (HBD-2) ditambahkan, dengan tujuan berikatan dengan antigen.

Kemudian antibodi sekunder (antiglobulin yang telah dilabel dengan enzim



horseradish peroxidase/ HRP dimasukkan ke dalam plate) yang akan berikatan dengan antibodi primer. Plate dicuci sehingga konjugat antibodi-enzim yang tidak terikat dapat dibuang. Selanjutnya larutan substrat ditambahkan ke dalam sumur dan intensitas warna yang terbentuk diukur dengan spektrofotometri pada 450 nm. Intensitas warna yang muncul disesuaikan dengan kadar HBD-2 dengan menggunakan standar larutan HBD-2 yang kadarnya telah diketahui, maka kadar HBD-2 dalam sampel feses yang diperiksa dapat diketahui pula.

4.9 Teknik Analisis Statistik

Data karakteristik sampel penelitian (pasangan ibu dengan neonatus aterm atau prematur), data kadar IGF-1 ASI transisi, dan kadar HBD-2 feses neonatus, dikumpulkan untuk dilakukan analisis statistik. Selanjutnya, data kadar IGF-1 ASI transisi dan kadar HBD-2 feses neonatus dilakukan uji normalitas *Shapiro-Wilk* sebagai syarat uji statistik parametrik, kriteria keputusan dengan melihat nilai p , jika $p > \alpha = 0,05$ maka data terdistribusi normal dan jika $p < \alpha = 0,05$ maka data tidak terdistribusi normal. Bila data sampel penelitian terdistribusi normal, dilakukan uji *one-way ANOVA (Analysis of Variance)* dan bila data sampel tidak terdistribusi normal, dilakukan uji *Kruskal Wallis*, untuk melihat perbedaan kadar IGF-1 ASI transisi dan kadar HBD-2 feses neonatus dari tiap-tiap kelompok penelitian.

Dan untuk membuktikan korelasi antara variabel kadar IGF-1 ASI dengan variabel kadar HBD-2 feses neonatus, dilakukan uji korelasi *Pearson* (bila data terdistribusi normal) atau uji korelasi *Spearman* (bila data tidak terdistribusi normal). Selanjutnya tingkat keeratan korelasi (koefisien korelasi/ KK) dapat diartikan ke dalam tujuh tingkatan sebagai berikut (Hasan, 2012).



$KK = 0$; tidak ada korelasi.

$0 < KK < 0,20$; korelasi sangat rendah.

$0,20 < KK < 0,40$; korelasi rendah.

$0,40 < KK < 0,70$; korelasi cukup.

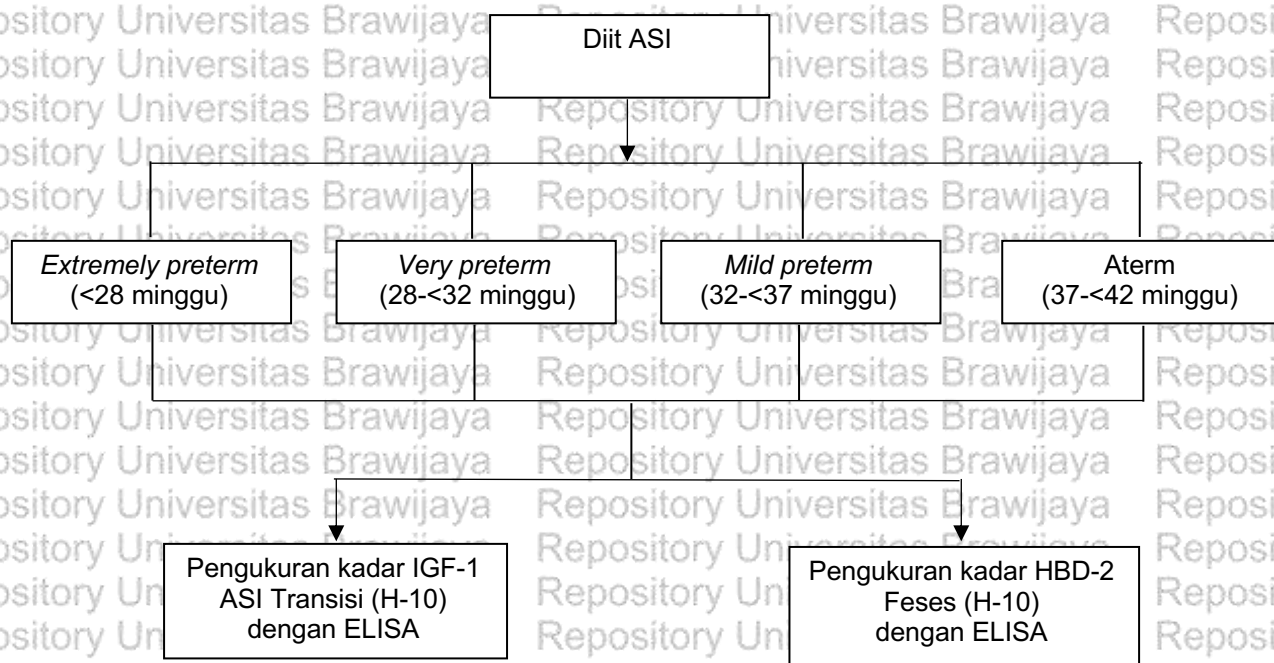
$0,70 < KK < 0,90$; korelasi kuat.

$0,90 < KK < 1,00$; korelasi sangat kuat

$KK = 1,00$; korelasi sempurna.

Uji statistik ini dilakukan untuk mencari perbedaan pada tiap-tiap kelompok sampel penelitian dan membuktikan korelasi antar variabel penelitian, yang diolah menggunakan perangkat lunak *SPSS for Windows 18* (Dahlan, 2009).

4.10 Alur Penelitian





BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL

5.1 Karakteristik sampel penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian deskriptif dengan rancangan studi *cross sectional*, didapatkan sampel penelitian sejumlah 24 pasangan ibu dan neonatus yang terbagi atas empat kelompok penelitian. Kelompok pertama adalah kelompok pasangan ibu dengan neonatus usia kehamilan 37-<42 minggu, kelompok kedua adalah kelompok pasangan ibu dengan neonatus usia kehamilan 32-<37 minggu, kelompok ketiga adalah kelompok pasangan ibu dengan neonatus usia kehamilan 28-<32 minggu, dan kelompok keempat adalah kelompok pasangan ibu dengan neonatus usia kehamilan <28 minggu. Dua puluh empat pasangan ibu dan neonatus yang menjadi sampel penelitian dikumpulkan sesuai kriteria inklusi pada Bulan Juni sampai Bulan Agustus 2019 di ruang neonatologi Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Saiful Anwar Malang.

Karakteristik sampel penelitian yang diamati adalah karakteristik ibu (usia, indeks massa tubuh, pendidikan, pekerjaan, paritas, perokok aktif, riwayat pre-eklampsia/ eklampsia, riwayat *preterm premature rupture of membrane/ premature rupture of membrane*, riwayat korioamnionitis) dan karakteristik neonatus (jenis kelamin, cara lahir, usia kehamilan, berat badan lahir, skor Apgar, dan luaran klinis insiden *feeding intolerance*, enterokolitis nekrotikan/ EKN, neonatal sepsis/ *late onset sepsis*, penggunaan ventilasi mekanik). Data karakteristik sampel penelitian secara rinci ditampilkan pada tabel 5.1 di bawah ini:

Tabel 5.1 Karakteristik sampel penelitian

Karakteristik Sampel	Kelompok Sampel				Jumlah	Nilai p
	37 - <42	32 - <37	28 - <32	<28		
Karakteristik ibu						
Usia ibu						0,242 ^a
• 17-35 tahun	5	6	4	6	21	
• >35 tahun	1	0	2	0	3	
Indeks massa tubuh ibu						0,828 ^a
• 18,5-24,9	1	3	3	4	11	
• 25-29,9	3	1	2	1	7	
• >30	2	2	1	1	6	
Pendidikan ibu						0,101 ^a
• Sekolah Dasar	3	0	1	0	4	
• Sekolah Menengah Pertama	0	1	0	4	5	
• Sekolah Menengah Atas	0	1	3	2	6	
• Diploma/ Sarjana	3	4	2	0	9	
Pekerjaan ibu						0,721 ^b
• Tidak bekerja/	3	4	3	2	12	
• Ibu rumah tangga						
• Bekerja	3	2	3	4	12	
Paritas ibu						0,144 ^b
• Primipara	1	1	2	0	4	
• Multipara	5	5	4	6	20	
Perokok Aktif						0,016 ^{*b}
• Ya	0	0	0	3	3	
• Tidak	6	6	6	3	21	
Pre-eklampsia/ Eklampsia						0,000 ^{*b}
• Ya	0	5	0	0	5	
• Tidak	6	1	6	6	19	
Preterm premature rupture of membrane/ Premature rupture of membrane >18 jam						0,065 ^b
• Ya	3	6	2	2	13	
• Tidak	3	0	4	4	11	
Korioamnionitis						0,860 ^b
• Ya	1	1	1	2	5	
• Tidak	5	5	5	4	19	

Karakteristik Sampel

Kelompok Sampel

Jumlah

Nilai p

37 - <42

32 - <37

28 - <32

<28

Karakteristik neonatus

Jenis kelamin bayi

0,212^b

• Laki-Laki

4

1

1

2

8

• Perempuan

2

5

5

4

16

Cara lahir

0,015^{a,b}

• Spontan

1

0

3

5

9

• SCTP

5

6

3

1

15

Berat badan lahir (gram),

3296,00

2179,63

1264,57

899,33

n/a

0,000^{*c}

mean (SD)

(454,35)

(181,70)

(135,99)

(86,03)

AS-1, median (min-maks)

6 (6-7)

5 (3-7)

5 (3-6)

3 (1-5)

n/a

0,007^{*c}

AS-5, median (min-maks)

7,50 (7-9)

7 (5-9)

7 (5-8)

5 (3-7)

n/a

0,021^{*c}

Feeding intolerance

0

1

4

6

11

0,002^{*a}

Enterokolitis nekrotikan (EKN)

0

0

1

5

6

0,002^{*a}Neonatal sepsis (*late onset sepsis*)

0

1

0

1

2

0,536^a

Ventilasi mekanik

0

0

0

3

3

0,042^{*a}

Keterangan: nilai p <0,05 = signifikan (*). ^a nilai p dihitung dengan uji *Chi-square*; ^b nilai p dihitung dengan uji *Kruskal-Wallis*; dan ^c nilai p dihitung dengan uji *one-way ANOVA*.

Dari hasil analisis statistik, tidak terdapat perbedaan proporsi yang signifikan pada empat kelompok penelitian berdasarkan karakteristik ibu (usia, indeks massa tubuh, status pekerjaan, paritas, riwayat kehamilan dengan korioamnionitis dan *preterm premature rupture of membrane/ premature rupture of membrane* >18 jam). Kecuali, ibu perokok aktif dan riwayat kehamilan ibu dengan pre-eklampsia/ eklampsia memberikan perbedaan yang signifikan secara statistik diantara empat kelompok penelitian (nilai p <0,05).

Data karakteristik neonatus yang menjadi sampel penelitian menunjukkan perbedaan proporsi yang signifikan pada empat kelompok penelitian berdasarkan cara lahir, berat badan lahir, skor *Apgar* menit pertama, skor *Apgar* menit kelima, luaran neonatus dengan *feeding intolerance*, enterokolitis nekrotikan (EKN), dan penggunaan ventilasi mekanik (nilai p <0,05).

Sedangkan, karakteristik neonatus berdasarkan faktor jenis kelamin dan luaran



klinis neonatus dengan *late onset sepsis* tidak menunjukkan perbedaan proporsi yang signifikan secara statistik pada keempat kelompok penelitian.

5.2 Hasil uji syarat parametrik

Dalam penelitian ini data variabel kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses yang diambil dari empat kelompok sampel penelitian dilakukan uji normalitas data sebagai prasyarat uji statistik parametrik dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, karena jumlah sampel penelitian <50 . Hasil analisis uji *Shapiro-Wilk* diperoleh dan dijelaskan secara rinci pada tabel 5.2 di bawah ini:

Tabel 5.2 Hasil uji normalitas kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses

Variabel Penelitian	Nilai p	Distribusi Data
IGF-1 ASI Transisi		
• 37-42 minggu	0,437	Normal
• 32-37 minggu	0,670	Normal
• 28-32 minggu	0,707	Normal
• <28 minggu	0,736	Normal
HBD-2 Feses		
• 37-42 minggu	0,483	Normal
• 32-37 minggu	0,371	Normal
• 28-32 minggu	0,216	Normal
• <28 minggu	0,614	Normal

Keterangan : Jika nilai $p < 0,05$ berarti data tidak terdistribusi normal dan

Jika nilai $p > 0,05$ berarti data terdistribusi normal

Pada tabel 5.2 berdasarkan hasil uji statistik *Shapiro-Wilk* diperoleh hasil nilai p kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses dari empat kelompok sampel penelitian memberikan hasil $>0,05$, yang berarti data variabel kadar IGF-1 dan HBD-2 tersebut terdistribusi normal. Karena data variabel kadar IGF-1 ASI dan HBD-2 feses terdistribusi normal, maka data tersebut memenuhi prasyarat uji statistik parametrik. Selanjutnya, data kadar IGF-1 ASI dan HBD-2 feses berdasarkan kelompok usia kehamilan dilakukan uji komparatif



numerik tidak berpasangan lebih dari dua kelompok dengan menggunakan uji *one-way ANOVA (analysis of variance)*.

5.3 Uji komparatif kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses

Untuk menjawab tujuan penelitian apakah terdapat perbedaan kadar IGF-1 ASI ASI transisi dan HBD-2 feses antara neonatus aterm dan prematur, dilakukan uji komparatif *independent t-test* sebagai berikut (tabel 5.3):

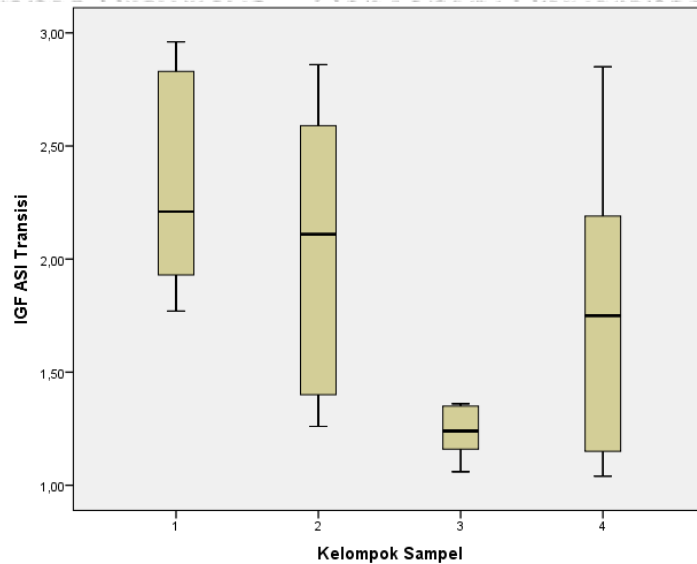
Tabel 5.3 Hasil uji *independent t-test* kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses pada neonatus aterm dan prematur

Karakteristik Sampel	IGF-1 ASI Transisi			HBD-2 Feses		
	Mean (SD) (ng/ml)	Mean Difference (ng/ml)	Nilai p	Mean (SD) (ng/ml)	Mean Difference (ng/ml)	Nilai p
Aterm	2,32 (0,49)	0,726	0,010*	1246,33 (633,27)	2130,67	0,017*
Prematur	1,59 (0,56)			3377,00 (1953,67)		

Keterangan: nilai $p < 0,05$ = signifikan (*)

Dari hasil analisis statistik pada tabel 5.3 dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara *mean* kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses dari neonatus aterm dan prematur, dengan perbedaan *mean* masing-masing sebesar 0,726 ng/ml dan 2130,67 ng/ml ($p < 0,05$).

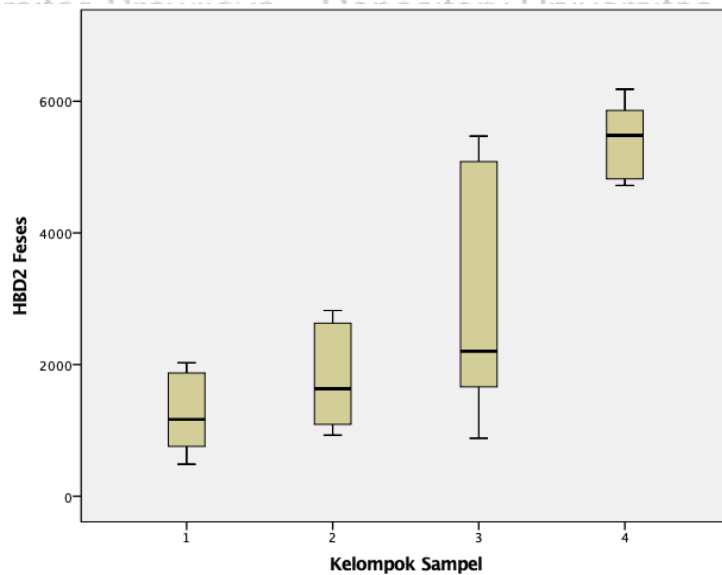
Selanjutnya, dilakukan uji statistik untuk mengetahui perbedaan *mean* kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses dari tiap-tiap kelompok sampel penelitian (kelompok 37-42 minggu, kelompok 32-37 minggu, kelompok 28-32 minggu, dan kelompok <28 minggu). Perbedaan *mean* kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses dari 4 kelompok sampel penelitian dapat dilihat dari gambar 5.1 dan 5.2 berikut:



Gambar 5.1 Mean kadar IGF-1 ASI transisi.

Mean kadar IGF-1 ASI transisi pada kelompok 1 (37-<42minggu) lebih tinggi dibandingkan tiga kelompok lain.

Keterangan: kelompok 1 (37-42 minggu), kelompok 2 (32-<37 minggu), kelompok 3 (28-<32 minggu), dan kelompok 4 (<28 minggu).



Gambar 5.2 Mean kadar HBD-2 feses.

Mean kadar HBD-2 feses menunjukkan peningkatan dengan semakin rendahnya usia kehamilan, mean kadar HBD-2 feses pada kelompok 4 (<28 minggu) lebih tinggi dibandingkan tiga kelompok lainnya.

Keterangan: kelompok 1 (37-42 minggu), kelompok 2 (32-<37 minggu), kelompok 3 (28-<32 minggu), dan kelompok 4 (<28 minggu).



Untuk mengetahui apakah perbedaan kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses dari tiap-tiap kelompok sampel penelitian menunjukkan kemaknaan secara statistik, dilakukan uji komparatif numerik tidak berpasangan lebih dari dua kelompok dengan menggunakan uji *one-way* ANOVA. Hasil yang diperoleh dari uji *one-way* ANOVA adalah sebagai berikut (tabel 5.4).

Tabel 5.4 Hasil uji *one-way* ANOVA kadar IGF-1 ASI ASI transisi dan HBD-2 feses

Karakteristik Sampel	ASI Transisi		HBD-2 Feses	
	Mean (SD) (ng/ml)	Nilai p	Mean (SD) (ng/ml)	Nilai p
Usia Kehamilan				
37-<42 minggu	2,32 (0,49)	0,003*	1246,33 (633,27)	0,000*
32-<37 minggu	2,06 (0,63)		1788,83 (801,40)	
28-<32 minggu	1,24 (0,11)		2917,00 (1917,14)	
<28 minggu	1,79 (0,69)		5425,17 (587,30)	

Keterangan: Nilai p <0,05 = signifikan (*)

Dari hasil uji *one-way* ANOVA kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses (tabel 5.4), didapatkan *mean* kadar IGF-1 ASI transisi tertinggi pada kelompok sampel 37-<42 minggu ($2,32 \pm 0,49$ ng/ml) dan terendah pada kelompok 28-<32 minggu ($1,24 \pm 0,11$ ng/ml), data komparasi *mean* kadar IGF-1 ASI transisi ini menunjukkan perbedaan yang bermakna antar tiap kelompok sampel penelitian ($p=0,003$). Tabel 5.4 juga menunjukkan kadar HBD-2 feses tertinggi pada kelompok <28 minggu ($5425,17 \pm 587,30$ ng/ml) dan terendah pada kelompok 37-<42 minggu ($1246,33 \pm 633,27$ ng/ml), data komparasi *mean* kadar HBD-2 feses ini menunjukkan perbedaan yang bermakna antar tiap kelompok sampel penelitian ($p=0,000$).



5.4 Uji korelasi kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses neonatus dengan usia kehamilan ibu

Hasil analisis data dengan uji korelasi *Pearson* menunjukkan korelasi yang signifikan, masing-masing antara kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses dengan usia kehamilan ($p < 0,05$). Kadar IGF-1 ASI transisi berbanding lurus dengan usia kehamilan ibu, semakin tua usia kehamilan diikuti peningkatan kadar IGF-1 transisi. Dan sebaliknya, kadar HBD-2 feses neonatus berbanding terbalik dengan usia kehamilan ibu, semakin tua usia kehamilan maka kadar HBD-2 feses neonatus akan semakin rendah (tabel 5.5).

Tabel 5.5 Korelasi kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses

Karakteristik Sampel	IGF-1 ASI Transisi		HBD-2 Feses	
	r	Nilai p	r	Nilai p
Usia Kehamilan	0,611	0,002*	-0,725	0,000*

Keterangan: Nilai $p < 0,05$ = signifikan (*)

5.5 Uji korelasi kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses neonatus

Untuk membuktikan korelasi antara kadar IGF-1 ASI transisi dengan HBD-2 feses neonatus aterm dan neonatus prematur dilakukan uji korelasi *Pearson*. Hasil uji korelasi tersebut menunjukkan tidak terdapat korelasi yang signifikan secara statistik antara kadar IGF-1 ASI transisi dengan HBD-2 feses neonatus yang menjadi sampel penelitian. Nilai r dan nilai p uji korelasi kadar IGF-1 ASI transisi dengan HBD-2 feses ditampilkan pada tabel 5.6 berikut ini:

Tabel 5.6 Korelasi kadar IGF-1 ASI dan HBD-2 feses

Variabel	HBD-2 Feses	
	r	Nilai p
IGF-1 ASI Transisi	-0,338	0,106

Keterangan: Nilai $p < 0,05$ = signifikan (*)



5.6 Uji komparatif kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses dengan luaran klinis neonatus

Untuk mengetahui apakah perbedaan kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses dari tiap-tiap luaran klinis neonatus yang menjadi sampel penelitian menunjukkan kemaknaan secara statistik, dilakukan uji komparatif numerik dengan menggunakan uji *independent t-test* atau *one-way ANOVA*. Hasil yang diperoleh dari uji komparatif tersebut adalah sebagai berikut (tabel 5.7):

Tabel 5.7 Hasil uji komparatif kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses terhadap luaran klinis neonatus

Luaran Klinis Neonatus	IGF-1 ASI Transisi		HBD-2 Feses	
	Mean Difference (ng/ml)	Nilai p	Mean Difference (ng/ml)	Nilai p
Feeding intolerance	-0,78	0,00 ^a	2655,66	0,00 ^a
Enterokolitis nekrotikan	-0,54	0,067 ^a	3267,78	0,00 ^a
Late onset sepsis	-0,17	0,72 ^a	493,82	0,74 ^a
Ventilasi mekanik	n/a	0,08 ^b	n/a	0,03 ^b

Keterangan: nilai $p < 0,05$ = signifikan (*). ^a nilai p dihitung dengan uji *independent t-test*;

^b nilai p dihitung dengan uji *one-way ANOVA*. n/a: *not applicable*.

Tabel 5.7 menunjukkan terdapat perbedaan kadar IGF-1 ASI transisi yang bermakna secara statistik pada luaran klinis neonatus dengan *feeding intolerance* dengan *mean difference* -0,78 ng/ml ($p=0,00$). Hasil uji komparatif kadar HBD-2 feses neonatus menunjukkan perbedaan kadar HBD-2 feses yang bermakna secara statistik pada luaran klinis neonatus dengan *feeding intolerance*, enterokolitis nekrotikan, dan penggunaan ventilasi mekanik ($p < 0,05$); didapatkan kadar HBD-2 feses yang lebih besar dan signifikan pada neonatus dengan luaran klinis patologis.



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan desain penelitian deskriptif dengan rancangan studi *cross sectional*. Dari teknik pengambilan sampel secara *consecutive sampling*, didapatkan 24 sampel penelitian pasangan ibu dan neonatus yang terbagi dalam empat kelompok penelitian; kelompok pertama adalah pasangan ibu dengan neonatus usia kehamilan 37-<42 minggu, kelompok kedua adalah kelompok pasangan ibu dengan neonatus usia kehamilan 32-<37 minggu, kelompok ketiga adalah kelompok pasangan ibu dengan neonatus usia kehamilan 28-<32 minggu, dan kelompok keempat adalah kelompok pasangan ibu dengan neonatus usia kehamilan <28 minggu. Masing-masing kelompok penelitian terdiri dari 6 pasangan ibu-neonatus, jadi pada penelitian ini 18 sampel penelitian adalah neonatus prematur (usia kehamilan <37 minggu) dan 6 sampel penelitian adalah neonatus aterm (usia kehamilan 37-<42 minggu).

Proporsi empat kelompok sampel penelitian berdasarkan karakteristik ibu yang dianalisis, tidak terdapat perbedaan bermakna secara statistik ($p>0,05$) kecuali pada karakteristik ibu dengan riwayat perokok aktif dan pre-eklampsia/eklampsia. Dari hasil penelitian didapatkan usia ibu terbanyak pada kelompok usia 17-35 tahun (21/24) dan indeks masa tubuh ibu terbanyak pada rentang normal (18,5-24,9; 11/24). Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa sebagian besar sampel (13/24) memiliki indeks masa tubuh yang dikategorikan *overweight* dan *obese*. Korelasi usia ibu hamil dengan kelahiran prematur sampai saat ini masih kontroversial, faktor biologis maternal khususnya usia ibu <18 tahun dan atau usia ibu hamil yang semakin tua dikaitkan dengan kelahiran bayi prematur (Astolfi, 1999). Sebuah studi kohort (*QUARISMA study*) yang dilakukan Fuchs et



al., 2018 dengan 184.000 sampel memberikan kesimpulan bahwa usia ibu >40 tahun dihubungkan dengan peningkatan risiko kelahiran prematur. Hasil penelitian kami sesuai dengan analisis data yang diambil dari *Boston Birth Cohort* oleh Parker *et al.*, 2016; obesitas pada ibu hamil berhubungan dengan peningkatan risiko kelahiran prematur yang diinduksi faktor medis. Sebuah penelitian meta-analisis yang dilakukan MacDonald *et al.*, 2010 melakukan analisis terhadap 64 studi kohort dan 20 studi *case-control* yang melibatkan total 1.095.834 ibu hamil memberikan kesimpulan bahwa *overweight* dan obesitas pada ibu hamil meningkatkan risiko kelahiran prematur dan berat badan lahir rendah.

Tingkat pendidikan ibu terbanyak pada sampel penelitian ini adalah diploma/ sarjana (9/24), dari hasil penelitian ini juga dapat diketahui bahwa 15 ibu yang menjadi sampel penelitian ini hanya menyelesaikan pendidikan dasar dan menengah 12 tahun. Ruiz *et al.*, 2015 telah melakukan sebuah studi meta-analisis terhadap 12 studi kohort di Eropa dan menyimpulkan peningkatan risiko kelahiran prematur 1,48 kali (OR 1,29-1,69) dan berat badan lahir rendah 3,64 kali (OR 1,74-5,54) dari ibu dengan tingkat pendidikan yang rendah. Peningkatan risiko kelahiran prematur juga didapatkan pada ibu yang bekerja, penelitian oleh Agabla *et al.*, 2006 di Afrika Barat menyimpulkan bahwa ibu hamil yang mengangkat beban berat dan bekerja lebih dari 5 hari sepekan meningkatkan risiko kelahiran prematur secara signifikan (*adjusted* OR: 6,88; 95% CI: 1,45-32,2; $p=0,015$). Hasil penelitian kami didapatkan jumlah ibu yang bekerja dan tidak bekerja tidak berbeda, masing-masing terdiri atas 12 orang, sehingga perbedaannya tidak bermakna secara statistik ($p=0,721$).

Dari hasil penelitian didapatkan sebagian besar ibu yang menjadi sampel penelitian adalah multipara (20/24). Hasil serupa disimpulkan oleh



Simonsen *et al.*, 2013 yang melakukan penelitian kohort retrospektif terhadap ibu hamil dengan kelahiran prematur; Simonsen *et al.* menyimpulkan peningkatan risiko kelahiran prematur sebesar 21% pada persalinan kedua dan 22% pada persalinan ketiga. Tiga orang ibu yang menjadi sampel penelitian kami adalah perokok aktif, dan keseluruhan 3 orang ibu ini melahirkan bayi pada kelompok neonatus *extremely preterm* (<28 minggu). Perbedaan proporsi sampel ibu yang merokok pada penelitian kami bermakna secara statistik ($p=0,016$). Hasil penelitian ini tidak berbeda dengan penelitian-penelitian sebelumnya yang menyimpulkan bahwa kebiasaan merokok pada ibu hamil meningkatkan risiko kelahiran prematur, *preterm premature rupture of membrane*, dan perdarahan pasca persalinan (Kyrklund-Blomberg, 2005; Ion & Bernal, 2015). Studi kohort pada populasi Swedia dengan menggunakan sumber data *The Swedish Medical Birth Register* pada tahun 1999-2012 menyimpulkan kebiasaan merokok pada ibu hamil dihubungkan dengan peningkatan risiko kelahiran neonatus *extremely preterm* (OR 1.91; 95% CI: 1.53–2.39) (Dahlin *et al.*, 2016). Hasil penelitian kami menunjukkan tidak terdapat perbedaan *mean* kadar IGF-1 ASI transisi yang signifikan diantara kelompok sampel ibu perokok dan tidak ($p=0,314$). Hasil ini tidak berbeda dengan penelitian kohort oleh Ermis B, *et al.* (2004) yang menyimpulkan tidak didapatkan pengaruh ibu perokok terhadap kadar IGF-1 serum maternal dan ASI.

Karakteristik sampel ibu yang diikutsertakan dalam penelitian kami, sebagian besar (19/24) tidak didapatkan riwayat pre-eklampsia/ eklampsia, hanya 5 sampel yang memiliki riwayat pre-eklampsia/ eklampsia, dan 5 orang ibu ini secara keseluruhan melahirkan neonatus prematur, perbedaan riwayat pre-eklampsia/ eklampsia pada ibu yang menjadi sampel penelitian kami bermakna secara statistik ($p=0,00$). Hasil penelitian ini tidak berbeda dengan beberapa penelitian lain, yang menyimpulkan bahwa pre-eklampsia/ eklampsia memiliki



hubungan kausatif dan merupakan faktor risiko kelahiran prematur (Sibai, 2006; Emma *et al.*, 2016; Rasmussen *et al.*, 2017; Reza Omani-Samani *et al.*, 2019).

Sebagian besar ibu (13/24) yang menjadi sampel penelitian ini memiliki riwayat *preterm premature rupture of membrane* (PPROM)/ *premature rupture of membrane* (PROM) >18 jam. American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) mempublikasikan bahwa 1/3 kelahiran prematur disertai dengan PPRM dan terdapat peningkatan insiden PPRM sebesar 38% di Amerika Serikat sejak 1981. Besarnya sampel ibu dengan riwayat PPRM/ PROM pada penelitian kami, tidak diikuti peningkatan jumlah ibu dengan riwayat korioamnionitis (5/24). Infeksi maternal adalah salah satu faktor risiko kelahiran prematur (Goldenberg *et al.*, 2008). Beberapa penelitian menyimpulkan bahwa PPRM/ PROM, korioamnionitis, *fetal inflammatory syndrome* (FIRS) berhubungan dengan peningkatan risiko kelahiran prematur (ACOG, 2007; Park *et al.*, 2014). Hasil kontradiktif seperti penelitian kami diuraikan oleh Park *et al.*, 2016 yang menyimpulkan bahwa persalinan prematur dan PPRM memiliki pola yang berbeda dalam menginduksi terjadinya *acute histologic chorioamnionitis* dan atau *funisitis*.

Tujuh dari sembilan karakteristik neonatus yang dianalisis dalam penelitian ini menunjukkan perbedaan proporsi sampel yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$); jenis kelamin bayi dan luaran neonatus dengan *late onset sepsis* adalah dua karakteristik neonatus dalam penelitian ini yang tidak menunjukkan perbedaan proporsi yang signifikan secara statistik. Perbandingan jenis kelamin laki-laki dan perempuan pada sampel penelitian ini masing-masing adalah 8 dan 16 orang. Hasil penelitian kami berbeda dengan banyak studi lain, Ingemarsson, 2003 melakukan penelitian di Swedia dan memberikan kesimpulan penelitian bahwa kelahiran prematur bayi laki-laki didapatkan 55-60% dari semua



kelahiran prematur. Kesimpulan serupa dipublikasikan oleh Peelen *et al.*, 2016 gender laki-laki merupakan faktor risiko kelahiran prematur secara spontan. Tetapi, hasil berbeda seperti hasil penelitian kami dipublikasikan oleh Zeitlin *et al.*, 2002 yang melakukan analisis terhadap 4 studi kohort dan menyimpulkan bahwa tidak didapatkan peningkatan risiko gender laki-laki pada populasi studi terhadap kelahiran prematur, khususnya yang diinduksi faktor medis.

Kelahiran secara *sectio cesarean* didapatkan pada sebagian besar (15/24) sampel penelitian ini. Penelitian MacDorman *et al.*, 2014 menyimpulkan bahwa didapatkan peningkatan sebesar 47% kelahiran bayi prematur dengan *sectio cesarean* dibandingkan kelahiran bayi aterm. Sebuah penelitian kohort oleh Delnord *et al.*, 2014 juga memberikan kesimpulan yang sama bahwa didapatkan peningkatan prevalensi tindakan *sectio cesarean* pada kelahiran prematur.

Berat badan lahir neonatus yang menjadi sampel penelitian ini ditampilkan dalam $mean \pm SD$, $mean \pm SD$ berat badan lahir kelompok 37-<42 minggu adalah $3296,00 \pm 454,35$ gram, kelompok 32-<37 minggu adalah $2179,63 \pm 181,70$ gram, kelompok 28-<32 minggu adalah $1264,57 \pm 135,99$ gram, dan kelompok <28 minggu adalah $899,33 \pm 86,03$ gram. Sesuai grafik pertumbuhan janin, hasil tersebut menunjukkan $mean \pm SD$ berat badan lahir sampel penelitian ini sesuai dengan usia kehamilannya (sesuai masa kehamilan/ SMK), penelitian di Taiwan menunjukkan prevalensi terjadinya prematur dengan SMK sekitar 70% dibandingkan yang KMK (kecil masa kehamilan) sebesar 30%, peneliti juga menyebutkan angka kejadian KMK bervariasi antara 10-40% di berbagai negara (Tsai *et al.*, 2015).

Hasil penelitian kami menunjukkan median skor Apgar menit ke-1 kelompok 37-<42 minggu adalah 6, kelompok 32-<37 minggu adalah 5,



kelompok 28-<32 minggu adalah 6, dan kelompok <28 minggu adalah 3 ($p=0,007$). Sedangkan penilaian skor Apgar menit ke-5, median pada kelompok 37-42 minggu adalah 7,5, kelompok 32-<37 minggu adalah 7, kelompok 28-<32 minggu adalah 7, dan kelompok <28 minggu adalah 5 ($p=0,021$). Perbedaan median skor Apgar menit ke-1 dan menit ke-5 pada kelompok neonatus aterm dan neonatus preterm yang menjadi sampel penelitian signifikan secara statistik ($p<0,05$). Hasil penelitian kami tidak berbeda dengan beberapa penelitian lain yang menyimpulkan skor APGAR yang rendah berhubungan dengan kelahiran prematur, kehamilan multipel, riwayat persalinan *sectio cesarean* sebelumnya, obesitas pada ibu, dan *fetal compromised* (Hegyi *et al.*, 1998; Senvik *et al.*, 2015).

Analisis statistik menunjukkan perbedaan proporsi kelompok sampel neonatus yang signifikan berdasarkan luaran klinis neonatus (*feeding intolerance*, enterokolitis nekrotikan, dan penggunaan ventilasi mekanik), keseluruhan sampel neonatus dengan luaran klinis patologis berada pada kelompok neonatus prematur (<37 minggu) ($p<0,05$). Hasil penelitian ini sesuai dengan kesimpulan penelitian lain; prematur dan BBLR meningkatkan risiko morbiditas dan mortalitas seperti terjadinya hipoglikemia, *feeding intolerance*, *jaundice*, hipotermia, dan risiko sepsis dibandingkan dengan neonatus lahir cukup bulan (Stol *et al.*, 2002; Spearman, Camacho-Gonzalez & Stoll, 2013; Natile *et al.*, 2014). Sedikit kontradiktif dari hasil penelitian ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan diantara empat kelompok sampel neonatus berdasarkan luaran klinis neonatus dengan *late onset sepsis* ($p=0,536$).

Tujuan umum penelitian ini adalah membuktikan perbedaan antara kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses neonatus aterm dan prematur yang mendapatkan asupan ASI. Penelitian ini menghasilkan temuan terdapat



perbedaan *mean* kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses neonatus yang bermakna secara statistik pada kelompok neonatus aterm dan prematur.

Didapatkan *mean* kadar IGF-1 ASI transisi kelompok neonatus aterm lebih tinggi 0,726 ng/ml dibandingkan kelompok neonatus prematur ($p=0,010$). Hasil penelitian ini juga membuktikan *mean* kadar HBD-2 feses neonatus prematur lebih tinggi 2130,67 ng/ml dibandingkan kelompok neonatus aterm ($p=0,017$).

Analisis statistik lebih lanjut terhadap hasil penelitian ini menghasilkan temuan bahwa kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses dari tiap-tiap kelompok sampel neonatus memiliki perbedaan *mean* kadar IGF-1 dan HBD-2 yang bermakna secara statistik ($p=0,003$ dan $p=0,000$). *Mean* kadar IGF-1 ASI transisi tertinggi pada kelompok sampel aterm 37-<42 minggu ($2,32\pm0,49$ ng/ml) dan *mean* kadar HBD-2 feses neonatus tertinggi pada kelompok *extremely preterm* <28 minggu ($5425,17\pm587,30$ ng/ml).

Salah satu latar belakang penelitian ini adalah keterbatasan penelitian yang membuktikan kadar IGF-1 sebagai *growth factors* pada ASI dan kadar HBD-2 feses sebagai biomarker inflamasi non-invasif pada neonatus prematur. Hasil analisis statistik pada penelitian menunjukkan korelasi yang signifikan antara kadar IGF-1 ASI transisi dengan usia kehamilan ($r=0,611$; $p=0,002$).

Kadar IGF-1 ASI transisi berbanding lurus dengan usia kehamilan ibu, semakin tua usia kehamilan diikuti peningkatan kadar IGF-1 transisi. Hasil penelitian yang serupa diuraikan oleh Lassarre *et al.*, 1991; bahwa kadar serum IGF-1 dan IGF-2 maternal lebih tinggi dua sampai tiga kali pada kehamilan aterm dibandingkan usia kehamilan ≤ 33 minggu. Hasil penelitian lain memberikan kesimpulan, bahwa neonatus prematur memiliki kadar IGF-1 serum rendah dan dihubungkan dengan peningkatan risiko retinopati prematuritas dan EKN (Ballard & Morrow, 2013). Hasil penelitian kami berbeda dengan yang dipublikasikan Cooley *et al.*,



2010, yang memberikan kesimpulan tidak terdapat korelasi yang signifikan antara kadar serum IGF-1 dan IGF-2 maternal dengan kelahiran prematur.

Masih terbatas penelitian kohort dengan sampel penelitian pasangan ibu dengan neonatus prematur dan aterm yang mengevaluasi kadar IGF-1 ASI secara terperinci pada tahapan laktasi mulai dari ASI kolostrum, ASI transisi, dan ASI matur; sebagai data pembandingan penelitian kami.

Analisis statistik pada penelitian ini menunjukkan korelasi yang signifikan antara kadar HBD-2 feses neonatus dengan usia kehamilan ($r=-0,725$; $p=0,000$). Kadar HBD-2 feses neonatus berbanding terbalik dengan usia kehamilan ibu, maka semakin tua usia kehamilan maka kadar HBD-2 feses neonatus akan semakin rendah. Campeotto *et al.*, 2010 memberikan kesimpulan serupa bahwa neonatus prematur menunjukkan kadar HBD-2 feses yang tinggi pada 15 sampai 60 hari post-natal (82 ng/g; 30–154 & 85 ng/g; 26–390). Temuan penelitian kontradiktif diuraikan oleh Richter *et al.*, 2010; terdapat perbedaan kadar HBD-2 yang signifikan terhadap usia kehamilan, kadar HBD-2 feses neonatus yang rendah merupakan faktor risiko luaran klinis enterokolitis nekrotikan pada neonatus prematur.

Penelitian ini membuktikan *mean* kadar IGF-1 ASI transisi yang rendah bermakna secara statistik pada luaran kinis neonatus dengan *feeding intolerance* ($p=0,00$). Penelitian lain menyimpulkan bahwa salah satu faktor pertumbuhan (*growth factors*) dari ASI yang memiliki peran protektif penting dalam patofisiologi EKN adalah IGF-1 (Tanner *et al.*, 2015); neonatus yang memiliki kadar IGF-1 serum rendah, didapatkan peningkatan risiko retinopati prematuritas dan EKN (Ballard & Morrow, 2013).

Hasil uji komparatif kadar HBD-2 feses neonatus menunjukkan perbedaan kadar HBD-2 feses yang bermakna secara statistik terhadap luaran klinis patologis neonatus dengan *feeding intolerance*, enterokolitis nekrotikan,



dan penggunaan ventilasi mekanik ($p < 0,05$). Hasil penelitian lain menyimpulkan peran potensial HBD-2 feses untuk diagnosis EKN; 2/3 neonatus dengan EKN dan perdarahan kolorektal yang menjadi sampel penelitian, memiliki kadar HBD-2 di atas nilai maksimum kontrol (Campeotto *et al.*, 2010). Pang *et al.* mendapatkan peningkatan kadar HBD-2 feses pada neonatus dengan *moderate NEC* sebelum onset klinis. (Pang *et al.*, 2014). Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa HBD-2 feses merefleksikan kejadian inflamasi intestinal pada neonatus prematur yang mengonsumsi ASI maupun susu formula di usia empat belas hari (Corebima *et al.*, 2019).

Terdapat beberapa keterbatasan dalam penelitian ini. Jumlah sampel yang kecil diperoleh secara *consecutive sampling* dengan keterbatasan waktu penelitian dapat mempengaruhi representasi sampel penelitian terhadap populasi umum yang terbatas. Pengukuran parameter IGF-1 ASI dan HBD-2 feses hanya dilakukan satu kali pengukuran, sehingga tidak dapat diketahui pasti pola perubahan biologis kadar IGF-1 ASI dan HBD-2 feses pada periode neonatal. Penelitian ini tidak mengukur kadar serum IGF-1, serum HBD-2, dan HBD-2 ASI; sehingga tidak diketahui variabilitas biologis kadar IGF-1 dan HBD-2. Kadar serum IGF-1 dan HBD-2 neonatus perlu diukur untuk mengetahui bioavailabilitas IGF-1 dan HBD-2 pada ASI saat dikonsumsi neonatus secara per oral. Penelitian ini juga belum mengkaji karakteristik klinis ibu yang bisa mempengaruhi produksi ASI, *growth factors*, dan AMP-nya (asupan nutrisi, status imunologis, penyakit kronis pre-konsepsi, dan sebagainya). Tidak diukur kadar hormonal dan atau substrat lain yang bisa mempengaruhi kadar IGF-1 ASI (IGF-2, IGFBP, GH, prolaktin, estradiol, dan sebagainya) dan HBD-2 feses neonatus (mikrobiota saluran pencernaan neonatus) menjadi kelemahan penelitian kami.



BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan bermakna kadar IGF-1 ASI transisi dari ibu dengan neonatus aterm dan neonatus prematur (*extremely preterm, very preterm, mild preterm*).
2. Terdapat korelasi positif yang bermakna antara IGF-1 ASI transisi dengan usia kehamilan. Kadar IGF-1 ASI transisi pada neonatus aterm lebih tinggi bermakna dibandingkan neonatus prematur.
3. Terdapat perbedaan bermakna kadar IGF-1 ASI transisi terhadap luaran klinis neonatus dengan *feeding intolerance*.
4. Terdapat perbedaan bermakna kadar HBD-2 feses dari ibu dengan neonatus aterm dan neonatus prematur (*extremely preterm, very preterm, mild preterm*).
5. Terdapat korelasi negatif yang bermakna antara HBD-2 feses neonatus dengan usia kehamilan. Kadar HBD-2 feses neonatus prematur lebih tinggi bermakna dibandingkan neonatus aterm.
6. Terdapat perbedaan bermakna kadar HBD-2 feses neonatus terhadap luaran klinis neonatus dengan *feeding intolerance*, enterokolitis nekrotikan, dan penggunaan ventilasi mekanik.
7. Tidak terdapat korelasi yang bermakna antara IGF-1 ASI transisi dengan HBD-2 feses neonatus.



7.2 Saran

1. Dibutuhkan penelitian lanjutan yang mengukur serial kadar IGF-1 ASI kolostrum, ASI transisi, dan ASI matur dari ibu dengan neonatus aterm dan prematur, untuk mengetahui pola perubahan biologis kadar IGF-1 ASI pada periode neonatal.
2. Dibutuhkan penelitian lanjutan yang mengevaluasi manfaat asupan ASI secara enteral pada neonatus aterm dan prematur, terhadap parameter inflamasi khususnya inflamasi saluran pencernaan neonatus (klinis dan laboratoris), misal dengan mengukur *IT ratio*, *c-reactive protein*, prokalsitonin, dan biomarker inflamasi non-invasif lain pada feses neonatus.
3. Dibutuhkan penelitian lanjutan yang mengevaluasi kadar IGF-1 serum maternal, IGF-1 ASI, dan IGF-1 serum neonatal; untuk mengetahui variabilitas biologis kadar IGF-1 maternal dan neonatal.
4. Dibutuhkan penelitian lanjutan yang mengkaji karakteristik klinis ibu yang bisa mempengaruhi produksi ASI, *growth factors*, dan AMP-nya (asupan nutrisi, status imunologis, penyakit kronis pre-konsepsi, dan sebagainya).
5. Dibutuhkan penelitian lanjutan yang mengukur kadar hormon dan substrat lain yang mempengaruhi kadar IGF-1 pada serum dan ASI maternal (IGF-2, *IGF-binding proteins*, prolaktin, estradiol, dan sebagainya).
6. Dibutuhkan penelitian lanjutan yang mengukur kadar HBD-2 serum maternal dan HBD-2 ASI, sehingga bisa diketahui bioavailabilitas kadar HBD-2.
7. Dibutuhkan penelitian lanjutan yang mengevaluasi kadar HBD-2 serum maternal, HBD-2 ASI, HBD-2 serum neonatal, dan HBD-2



feses neonatus, untuk mengetahui kinetika biologis kadar HBD-2 pada neonatus aterm dan prematur.

8. Dibutuhkan penelitian lanjutan untuk mengevaluasi karakteristik klinis neonatus yang mempengaruhi tingkat inflamasi saluran pencernaan pada neonatus aterm dan prematur, misalnya asfiksia neonatorum, sepsis neonatal, nutrisi parenteral, mikrobiota saluran pencernaan neonatus, dan sebagainya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adama-Hondegla AB, Aboubakari AS, Egloh AS, Fiagnon K, Bassowa A. 2016. Indications and Prognosis of Fetal Extractions by Caesarean Section before 34 Weeks of Amenorrhea in Black African Context. *Obstet Gynecol Int J* 4(2): 00100. DOI: 10.15406/ogij.2016.04.00100.
- Adriana C. Vidal, Amy P. Murtha, Susan K. Murphy. 2013. Maternal BMI, IGF-I Levels, and Birth Weight in African American and White Infants, *International Journal of Pediatrics*, vol. 2013, Article ID 191472, 7 pages, 2013. doi:10.1155/2013/191472.
- Agabla F, Ergin A, and Boris NW. 2006. Occupational working conditions as risk factors for preterm birth in Benin, West Africa. *Rev Epidemiol Sante Publique*. Apr;54(2):157-65.
- Ahle M, Drott P, Andersson RE. 2013. Epidemiology and Trends of Necrotizing Enterocolitis in Sweden: 1987-2009. *Pediatrics*, 132: 1-11.
- Aikin R, Rosenberg L, Maysinger D. 2000. Phosphatidylinositol 3-kinase signaling to Akt mediates survival in isolated canine islets of Langerhans. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000; 277:455-461.
- Alan S, Atasay B, Cakir U, Yildiz D, Kilic A, Kahvecioglu D. 2013. An intention to achieve better postnatal in-hospital-growth for preterm infants: Adjustable protein fortification of human milk. *Early Human Development* vol. 89, no. 12, hh. 1017-1023.
- Alexander AN and Carey HV. 1999 Oral IGF-I enhances nutrient and electrolyte absorption in neonatal piglet intestine. *Am J Physiol*. 1999 Sep;277(3 Pt 1):G619-25.
- Allen TR, Krueger KD, Hunter WJ 3rd, Agrawal DK. 2005. Evidence that insulin-like growth factor-I requires protein kinase C-epsilon, PI3-kinase and mitogen-activated protein kinase pathways to protect human vascular smooth muscle cells from apoptosis. *Immunol Cell Biol*. 83:651-667.
- American Academy of Pediatrics. 2012. Breastfeeding and The Use of Human Milk. *Pediatrics*, e827-841.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. 2007. Premature rupture of membranes. *ACOG Practice Bulletin* No. 80. *Obstet Gynecol*. 2007;109:1007-1019.



Astolfi, LA Zonta. 1999. Risks of preterm delivery and association with maternal age, birth order, and fetal gender, *Human Reproduction*, Volume 14, Issue 11, 1 November 1999, Pages 2891–2894.

Athalye-Jape G, More K, and Patole S. 2012. Progress In The Field Of Necrotising Enterocolitis-Year 2012. *The Journal Of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 26, 625-632.

Avula S, Smith LN, Monga R, Lockwood L, Kadrofske M. 2017. Stool Biomarkers to Diagnose Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants: A Pilot Case-Control Study. *Pediatrics*; 140(1):1-7.

Bachour P, Yafawi R, Jaber F, Choueiri E, Abdel-Razzak Z. 2012. Effects of smoking, mother's age, body mass index, and parity number on lipid, protein, and secretory immunoglobulin A concentrations of human milk. *Breastfeed Med* 7, 179–188.

Ballard FJ, Tomas FM, Read LC, Knowles SE, Owens PC. 1991. Effect of IGF-I and IGF analogs on growth during catabolic states, in rats. *In Modern Concepts of Insulin-Like Growth Factors*, ed. EM Spencer, pp 617-27. New York: Elsevier

Ballard O and Morrow AL. 2013. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am* 60, 49–74.

Baregamian N, Song J, Jeschke MG, Evers BM, Chung DH. 2006. IGF-I protects intestinal epithelial cells from oxidative stress-induced apoptosis. *J Surg Res*. 136(1):31-37.

Baregamian N, Rychahou PG, Hawkins HK, Evers BM, Chung DH. 2007. Phosphatidylinositol 3-kinase pathway regulates hypoxia-inducible factor-1 to protect from intestinal injury during necrotizing enterocolitis. *Surgery*. 142(2):295-302.

Baregamian N, Song J, Papaconstantinou J, Hawkins HK, Evers BM, Chung DH. 2011. Intestinal mitochondrial apoptotic signaling is activated during oxidative stress. *Pediatr Surg Int*. 27(*):871-7.

Baumrucker CR, Hadsell DL, Blum JW. 1994. Effects of dietary insulin-like growth factor I on growth and insulin-like growth factor receptors in neonatal calf intestine. *J Anim Sci*. 1994;72:428–33.



Bernardo WM, Aires FT, Carneiro RM, Sá FPD, Rullo VEV, and Burns DA. 2013. Effectiveness Of Probiotics In The Prophylaxis Of Necrotizing Enterocolitis In Preterm Neonates: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Jornal De Pediatria*, 89, 18-24.

Bhatia J. 2007. Human milk and the premature infant. *Journal of Perinatology*. 27: 71–74.

Bishara R, Dunn MS, Merko SE, Darling P. 2009. Volume of foremilk, hindmilk, and total milk produced by mothers of very preterm infants born at less than 28 weeks of gestation. *J Hum Lact* 25, 272–279.

Blum JW and Baumrucker CR. 2002. Colostral and milk insulin-like growth factors and related substances: mammary gland and neonatal (intestinal and systemic) targets. *Dom. Anim. Endocrin.* 23:101–110.

Bortvedt SF, Lund PK. 2012. Insulin-like growth factor 1: common mediator of multiple enterotrophic hormones and growth factors. *Curr Opin Gastroenterol.* 28:89–98.

Burrin DG, Wester TJ, Davis TA, Amick S, Heath JP. 1996. Orally administered IGF-I increases intestinal mucosal growth in formula-fed neonatal pigs. *Am J Physiol.* 1996;270:R1085–91.

Burrin DG. 1997. Is milk-borne insulin-like growth factor-I essential for neonatal development? *J. Nutr.* 1997; 127:975S–979S.

Breier BH, Woodall SM, Breier BH, O'Sullivan U, Gluckman PD. 1991. The effect of the frequency of subcutaneous insulin-like growth factor-1 administration on weight gain in growth hormone deficient mice. *Horm Metab Res.* 1991 Dec;23(12):581-4.

Brooks H, Connell M, Broadbent R. 2015. Microbes and the Inflammatory Response in Necrotizing Enterocolitis. *Preterm Birth*, 5, 137-160.

Broadhurst M, Beddis K, Black J, Henderson H, Nair A, Wheeler T. 2015. Effect of gestation length on the levels of five innate defence proteins in human milk. *Early Hum Dev* 91, 7–11.

Buyukkayhan D, Tanzer F, Erselcan T, Cinar Z, Yonem O. 2003. Umbilical serum insulin-like growth factor 1 (IGF-1) in newborns: effects of gestational age, postnatal age, and nutrition. *Int J Vitam Nutr Res.* 2003; 73(5):343–346.

Campeotto F, Baldassarre M, Laforgia N, Viallon V, Kalach N, Amati L, Butel MJ, Dupont C, Kapel N. 2010. Fecal Expression of Human Beta Defensin 2 following Birth. *Neonatology*; 98:365-369.



Carlson J, Melissa I. Chang, Prathima Nandivada, Eileen Cowan, Mark Puder. 2013. Neonatal intestinal physiology and failure. *Seminars in Pediatric Surgery* 22. 190–194.

Chan KYY, Leung FWL, Lam HS, Tam YH, To KF, Cheung HM, Leung KT, Poon TCW, Lee KH, and Li K. 2012. Immunoregulatory Protein Profiles Of Necrotizing Enterocolitis Versus Spontaneous Intestinal Perforation In Preterm Infants. *Plos One*, 7, E36977.

Chang CY, Chao JCJ. 2002. Effect of human milk and epidermal growth factor on growth of human intestinal caco-2 cells. *JPGN*. 2002; 34:394–401.

Chokshi NK, Guner YS, Hunter CJ, Upperman JS, Grishin A, and Ford HR. 2008. The Role Of Nitric Oxide In Intestinal Epithelial Injury and Restitution In Neonatal Necrotizing Enterocolitis. *Seminars In Perinatology*. Elsevier, 92-99.

Chu A, Hageman JR, and Caplan MS. 2013. Necrotizing Enterocolitis Predictive Markers and Preventive Strategies. *Neoreviews*, 14: E113-E120.

Clemmons DR, Klibanski A, Underwood LE, McArthur JW, Ridgway EC, Beitins IZ, Van

Wyk JJ. 1981. Reduction of plasma immunoreactive somatomedin C during fasting in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 1981 Dec;53(6):1247-50.

Cobo ER, Chadee K. 2013. Antimicrobial Human β defensin in the Colon and Their Role in Infection and Nn Infectious Diseases. *Pathogens*; 2:177-192.

Collier RJ, Mill MA, Hilderbrandt JR, Torkelson AR, White TC, Madsen KS, Vicini JL, Eppard PJ, Lanza GM. 1991. Factors affecting insulin-like growth factor-I concentration in bovine milk. *J Dairy Sci*. 74:2905-11.

Conteas CN, McMorrow B, Luk GD. 1989. Modulation of epidermal growth factor-induced cell proliferation and receptor binding by insulin in cultured intestinal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989; 161:414–419. [PubMed: 2660787].

Cooley SM, Donnelly JC, Geary MP, Rodeck CH, Hindmarsh PC. 2010. Maternal insulin-like growth factors 1 and 2 (IGF-1, IGF-2) and IGF BP-3 and the hypertensive disorders of pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2010 Jul;23(7):658-61. doi:10.3109/14767050903301033.



Corebima BIRV, Rohsiswatmo R, Gayatri P, Patole S. 2017. Fecal human beta defensin-2 (hBD-2) levels and gut microbiota patterns in preterm neonates with different feeding patterns. *Iranian Journal of Microbiology*. 2019 April;11(2):151-159.

Corpeleijn WE, Vliet Iv, Dana-Anne H, de Gast-Bakker, Schoor SRDvd, Alles MS, Hoijer M, Tibboel D, Goudoever JBV. 2008. Effect of enteral IGF-1 supplementation on feeding tolerance, growth, and gut permeability in enterally fed premature neonates. *JPGN*. 2008; 46:184–190.

Corps AN, Brown KD, Rees LH, Carr J, Prosser CG. 1988. The insulin-like growth factor I content in human milk increases between early and full lactation. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988 Jul;67(1):25-9.

Dahlan, Sopiudin. 2011. *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan Edisi 5*. Jakarta, Salemba Medika.

Dahlin, S, Gunnerbeck, A, Wikström, A-K, Cnattingius, S, Edstedt Bonamy, A-K. Maternal tobacco use and extremely premature birth- a population-based cohort study. *BJOG* 2016; 123: 1938– 1946.

Damayanti R, Rinawati R, Lily R, Klara Y. 2015. *Panduan Berbasis Bukti: Asuhan Nutrisi Untuk Bayi Prematur*. Jakarta.

Davis SR, Giuckman PD, Hart IC, Henderson HV. 1987. Effects of injecting growth hormone or thyroxine on milk production and blood plasma concentration of insulin-like growth factor I and II in dairy cows. *J. Endocrinol*. 114:17-24.

Dehoff MH, Elgin RG, Collier RJ, Clemmons DR. 1988. Both type I and II IGF receptor binding increase during lactogenesis in bovine mammary tissue. *Endocrinology* 122:2412-17.

Delafontaine P, Song YH, and Li Y. 2004. Expression, regulation, and function of IGF-1, IGF-1R, and IGF-1 binding proteins in blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24: 435-444.

Delnord M, Béatrice Blondel, Nicolas Drewniak, Kari Klungsøyr, Francisco Bolumar, Ashna Mohangoo, Mika Gissler, Katarzyna Szamotulska, Nicholas Lack, Jan Nijhuis, Petr Velebil, Luule Sakkeus, James Chalmers, Jennifer Zeitlin and Euro-Peristat Preterm Group. 2014. Varying gestational age patterns in cesarean delivery: an international comparison. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2014;14:321.



Denning PW and Maheshwari A. 2013. Necrotizing enterocolitis: Hope on the horizon. Clin Perinatol. 40: xvii–xix.

Deshpande G, Rao S, Patole S, and Bulsara M. 2010. Updated Meta-Analysis Of Probiotics For Preventing Necrotizing Enterocolitis In Preterm Neonates. Pediatrics, 125, 921-930.

Duncan MD, Korman LY, Bass BL. 1994. Epidermal growth factor primes intestinal epithelial cells for proliferative effect of insulin-like growth factor I. Dig Dis Sci. 1994; 39:2197–2201.

Dizdar EA, Sari FN, Degirmencioglu H, Canpolat FE, Oguz SS, Uras N, Dilmen U. 2014. Effect of mode of delivery on macronutrient content of breast milk. J Matern Fetal Neonatal Med 27, 1099–1102.

Donovan SM, Hintz RL, Wilson DM, Rosenfield RG. 1991. IGF-I/II and their binding proteins in rat milk. Pediatr. Res. 29:50-55.

Donovan SM, Odle J. 1994. Growth factors in milk as mediators of infant development. Annu Rev Nutr. 1994;14:147–67.

Dvorak B, Fituch CC, Williams CS, Hurst NM, Schanler RJ. 2003. Increased epidermal growth factor levels in human milk of mothers with extremely premature infants. Pediatr. Res. 2003; 54(1):15–19.

Dvorak B, Fituch CC, Williams CS, Hurst NM, Schanler RJ. 2004. Concentrations of epidermal growth factor and Transforming Growth Factor-Alpha in preterm milk. In: al., Pe, editor. Protecting Infants Through Human Milk. Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2004. p. 407-409.

Edmond KM, Zandoh C, Quigley MA, Amenga-Etego S, Owusu-Agyei S, Kirkwood BR. 2006. Delayed breastfeeding initiation increases risk of neonatal mortality. Pediatrics. 2006 Mar;117(3):e380-6.

Elmlinger MW, Hochhaus F, Loui A, Frommer KW, Obladen M, Ranke MB. 2007. Insulin-like growth factors and binding proteins in early milk from mothers of preterm and term infants. Horm. Res. 2007; 68:124–131.

Embleton ND, Simmer K. 2014. Practical of parenteral nutrition in VLBW and ELBW infants. Dalam: Pondexter BKB, Uauy R, penyunting. Nutritional care of preterm infants: Scientific basis and practical guidelines. World Review of Nutrition and Dietetics. Basel: Karger; 2014.h.177-89.

Emler CA and Schalch DS. 1987. Interaction of insulin-like growth factor II with rat chondrocytes: receptor binding, internalization, and degradation. Endocrinology. 1987 May;120(5):2108-16.



Emma L Davies, Jacqueline S Bell, and Sohinee Bhattacharya. 2016. Preeclampsia and preterm delivery: A population-based case-control study, *Hypertension in Pregnancy*, 35:4, 510-519.

Ermis B, Altinkaynak K, Yildirim A, Ozkan B. Influence of smoking on serum and milk of mothers, and their infants' serum insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 levels. *Horm Res*. 2004;62(6):288-92.

Endah RS. 2013. Familial congenital heart disease in Bandung, Indonesia. *Paediatrica Indonesiana*. vol. 53, hh. 173-6.

Ernst M and Froesch ER. 1988. Growth hormone dependent stimulation of osteoblast-like cells in serum-free cultures via local synthesis of insulin-like growth factor I. *Biochem Biophys Res Commun*. 1988 Feb 29;151(1):142-7.

Ersoy B, Ozbilgin K, Kasirga E, Inan S, Coskun S, Tuglu I. 2009. Effect of growth hormone on small intestinal homeostasis relation to cellular mediators IGF-I and IGFBP-3. *World J Gastroenterol*. 2009 Nov 21;15(43):5418-24.

ESPGHAN. 2013. Donor Human Milk for Preterm Infants: Current evidence and research directions. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*.

Fohlenhag K, Arrhenius-Nyberg V, Sjogren I, Malmlof K. 1997. Effects of insulin-like growth factor I (IGF-I) on the small intestine: a comparison between oral and subcutaneous administration in the weaned rat. *Growth Factors*. 1997;14:81-8.

Foulstone E, Prince S, Zaccheo O, Burns JL, Harper J, Jacobs C, Church D, Hassan AB. 2005. Insulin-like growth factor ligands, receptors, and binding proteins in cancer. *J Pathol*. 205:145-153.

Francis GL, Upton FJ, Ballard KA, McNeil and Wallace. 1988. Insulin-like growth factors I and II in bovine colostrum. *Biochem. J*. 251:95-103.

Frargy M, Hassan AM. 2014. The Effect of Probiotics Supplementation on Fecal Calprotectin as an Early Marker of Neonatal Enteropathy. *Journal of American Science*, 10, 8: 209-213.

Fuchs F, Monet B, Ducruet T, Chaillet N, Audibert F (2018) Effect of maternal age on the risk of preterm birth: A large cohort study. *PLoS ONE* 13(1): e0191002. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191002>.

Gidrewicz D, Fenton R. 2014. A systematic review and metaanalysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. *BMC pediatric journal*. 14:216.



Good M, Sodhi CP, and Hackam DJ. 2014. Evidence-Based Feeding Strategies Before and After The Development Of Necrotizing Enterocolitis. Expert Review Of Clinical Immunology, 10, 875-884.

Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. 2008. Epidemiology and causes of preterm birth. Lancet 371, 75-84.

Gordon P, Christensen R, Weitkamp JH, and Maheshwari A. 2012. Mapping The New World Of Necrotizing Enterocolitis (Nec): Review and Opinion. The E-Journal Of Neonatology Research, 2, 145.

Grave GD, Nelson SA, Walker WA, Moss RL, Dvorak B, Hamilton FA, Higgins R, and Raju TN. 2007. New Therapies and Preventive Approaches For Necrotizing Enterocolitis: Report Of A Research Planning Workshop. Pediatric Research, 62, 510-514.

Grimberg A. 2003. Mechanisms by which IGF-I may promote cancer. Cancer Biol Ther 2: 630-635.

Grosvenor CE, Picciano MF, Baumrucker CR. 1993. Hormones and growth factors in milk. Endocr Rev. 1993 Dec;14(6):710-28.

Gruszfeld D and Socha P. 2013. Early nutrition and health: short- and long-term outcomes. World Rev Nutr Diet. 2013;108:32-9. doi: 10.1159/000351482.

Hasan MI. 2012. Pokok-pokok materi statistik 2 (Statistik Inferensial). Edisi kedua, cetakan ketujuh. Jakarta: Bumi Aksara.

Haslam SZ and Shyamala G. 1979. Effect of oestradiol on progesterone receptors in normal mammary glands and its relationship with lactation. Biochem J. 1979 Jul 15. 182(1):127-31.

Hay W. 2013. Aggressive Nutrition of Preterm Infant. Curr Pediatr.

Hassiotou F and Geddes D. Anatomy of the human mammary gland: Current status of knowledge. Clin Anat. 2012 Sep 19.

Hassiotou F, Hepworth AR, Metzger P, Ching TL, Naomi T, Hartmann PE, Filgueira L. 2013. Maternal and infant infections stimulate a rapid leukocyte response in breastmilk. Clin Transl Immunol 2, e3.

Hellstrom A, Engstrom E, Hard AL, Albertsson-Wikland K, Carlsson B, Niklasson A, Lofqvist C, Svensson E, Holm S, Ewald U, Holmstrom G, Smith LE. 2003. Postnatal serum insulin-like growth factor I deficiency is associated with retinopathy of prematurity and other complication of premature birth. Pediatrics. 2003; 112:1016-1020.



Henry MC and Moss RL. 2009. Necrotizing Enterocolitis. Annual Review Of Medicine, 60, 111-124.

Herrmann K and Woolen S. 2014. Early parenteral nutrition and subsequent growth of premature infants. In: Watson R, Grimble G, Preedy VI. (eds.). Nutrition in Infancy, Volume 1. New York: Springer.185–206.

Hegyi T, Carbone T, Anwar M, Ostfeld B, Hiatt M, Koons A, Pinto-Martin J, and Paneth N. 1998. The Apgar Score and Its Components in the Preterm Infant. Pediatrics 1998; 101;77. DOI: 10.1542/peds.101.1.77.

He Y, Lawlor NT, Newburg DS. 2016. Human Milk Components Modulate Toll like Receptor- Mediated Inflammation. *Adv Nutr.* 7:102-11

Hormi K and Lehy T. 1994. Developmental expression of transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor receptor proteins in the human pancreas and digestive tract. Cell Tissue Res. 278:439–450.

Hunninghake GW, Doerschug KC, Nymon AB, Schmidt GA, Meyerholz DK, Ashare A. 2010. Insulin-like growth factor-1 levels contribute to the development of bacterial translocation in sepsis. Am J Respir Crit Care Med. 2010 Aug 15;182(4):517-25.

Hunter CJ, Upperman JS, Ford HR and Camerini V. 2008. Understanding The Susceptibility Of The Premature Infant To Necrotizing Enterocolitis (NEC). Pediatric Research, 63, 117-123.

Hynes MA, Van Wyk JJ, Brooks PJ, D'Ercole AJ, Jansen M, Lund PK. 1987. Growth hormone dependence of somatomedin-C/insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-II messenger ribonucleic acids. Mol Endocrinol. 1987 Mar;1(3):233-42.

Ikatan Dokter Anak Indonesia. 2015. Rekomendasi Praktik Pemberian Makan Berbasis Bukti pada Bayi dan Batita di Indonesia untuk Mencegah Malnutrisi. Penyunting: Damayanti R Sjarif, Klara Yuliarti, Endang D Lestari, IG Lanang Sidiarta, Sri S Nasar, Maria Mexitalia. Unit Kerja Nutrisi dan Penyakit Metabolik Ikatan Dokter Anak Indonesia.

Ingemarsson I. 2003. Gender aspects of preterm birth. BJOG. 2003 Apr;110 Suppl 20:34-8.

Ion RC Wills AK and Bernal AL. 2015. Environmental Tobacco Smoke Exposure in Pregnancy is Associated With Earlier Delivery and Reduced Birth Weight. Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.), 22(12), 1603-11. DOI: 10.1177/1933719115612135.



Jackson KM and Nazar AM. 2006. Breastfeeding, the immune response, and long-term health. *J Am Osteopath Assoc*. 2006 Apr;106(4):203-7.

Jenke AC, Zilbauer M, Postberg J, Wirth S. 2012. Human β defensin in ELBW infants with severe necrotizing enterocolitis. *Nature*, 72: 513-520.

Karolina L. 2011. Long-term Consequences of Preterm Birth: Swedish National Cohort Studies. 2011. From the Department of Clinical Sciences and Education, Children's Hospital Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden.

Klotman ME, Chang TL. 2016. Defensin in innate antiviral immunity. *Nature Reviews Immunologi*; 6: 447-456.

Khader A, Gallagher J, Woods M, Yang WL, Wang P, Stylianos S, Prince J. 2013. Necrotizing Enterocolitis: An Update on The Benefits of Breast Milk. *International Journal of Child Health and Nutrition*, 2, 79-84.

Khailova L, Dvorak K, Arganbright KM, Williams CS, Halpern MD, Dvorak B. 2009. Changes in hepatic cell junctions structure during experimental necrotizing enterocolitis: effect of EGF treatment. *Pediatr. Res*. 66(2):140-144. [PubMed: 19390485].

Kleinberg DL. 1997. Early mammary development: Growth hormone and IGF-1, *Mammary Gland Biol Neoplasia* 2:49, 1997.

Kling PJ, Taing KM, Dvorak B, Woodward SS, Corneu AF. 2006. Insulin-like growth factor-I stimulates erythropoiesis when administered enterally. *Growth Factors*. 24(3):218-223. [PubMed: 17079205].

Kunle-Olowu O, Peterside O, Adeyemi O. 2014. Prevalence and Outcome of Preterm Admissions at the Neonatal Unit of a Tertiary Health Centre in Southern Nigeria. *Open Journal of Pediatrics*, 4: 67-75.

Kurokawa M, Lynch K, Podolsky DK. 1987. Effects of growth factors on an intestinal epithelial cell line: transforming growth factor beta inhibits proliferation and stimulates differentiation. *Biochem Biophys Res Commun*. 142:775-782.

Kwa HG, Bulbrook RD, Wang DY. 1989. An overall perspective on the role of prolactin in the breast. In: Nagasawa H, editor: *Prolactin and Lesions in Breast, Uterus and Prostate*. Boca Raton, Fla. CRC Press.

Kyrklund-Blomberg NB, Granath F, Cnattingius S. 2005. Maternal smoking and causes of very preterm birth. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2005 Jun;84(6):572-7.



Lassarre C, Hardouin S, Dafos F. 1991. Serum insulin-like growth factor binding proteins in the human fetus. Relationships with growth in normal subjects and in subjects with intrauterine growth retardation. *Paediatr. Res.*, 29, 219–225.

Laburthe M, Rouyer-Fessard C, Gammeltoft S. 1988. Receptors for insulin-like growth factors I and II in rat gastrointestinal epithelium. *Am J Physiol.* 1988 Mar; 254: G457-62.

Lane JA, O'Callaghan J, Carrington SD, Hickey RM. 2013. Transcriptional response of HT-29 intestinal epithelial cells to human and bovine milk oligosaccharides. *Br J Nutr*;110: 2127–37.

Lawrence, Ruth A. 2011. Breastfeeding: a guide for the medical profession/ Ruth A. Lawrence, Robert M-7 th ed. Maryland-USA: Mosby, an imprint of Elsevier Inc.

Lebenthal E, Lee PC, Topper W. 1983. Amylase in the saliva and in the gastric aspirates of premature infants: its potential role in glucose polymer hydrolysis. *Pediatr Res.* 1983 Dec;17(12):998-1001.

Levebvre F, 1990. Breast Feeding Among Mother of Low Birth Weight Infants. 1990. *Can Fam Physician*; 36: 1533-1536.

Liu Y, Zhu L, Fatheree NY, Liu X, Pacheco SE, Tatevian N, Rhoads JM. 2009. Changes in intestinal toll-like receptors and cytokines precede histological injury in a rat model of necrotizing enterocolitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*; 297 :G442–50.

Lindberg T. 1979. Protease inhibitors in human milk. *Pediatr Res.* 1979 Sep;13(9):969-72.

Lund PK. 1998. Molecular basis of intestinal adaptation: the role of the insulin-like growth factor system. *Ann N Y Acad Sci.* 859:18–36.

MacDonald SD, Han Z, Mulla S, Beyene J; Knowledge Synthesis Group. 2010. Overweight and obesity in mothers and risk of preterm birth and low birth weight infants: systematic review and meta-analyses. *BMJ.* 2010 Jul 20;341:c3428. doi: 10.1136/bmj.c3428.

MacDorman MF, Matthews TJ, Mohangoo AD, Zeitlin J. 2014. International comparisons of infant mortality and related factors: United States and Europe, 2010. *Natl Vital Stat Rep.* 2014 Sep 24;63(5):1-6.



Mahapula F, Kumpuni K, Joyce P, Theresia F. 2016. Risk factors associated with pre-term birth in Dar es Salaam, Tanzania: a case-control study. Tanzania Journal of Health Research. Volume 18: No. 1.

Maheshwari A, Corbin L, and Schelonka R. 2011. Neonatal Necrotizing Enterocolitis. Res Rep Neonatol, 1, 39-53.

Maheshwari A, Schelonka RL, Dimmitt RA, Carlo WA, Munoz-Hernandez B, Das A, McDonald SA, Thorsen P, Skogstrand K, and Hougaard DM. 2014. Cytokines Associated With Necrotizing Enterocolitis In Extremely-Low-Birth-Weight Infants. Pediatric Research, 76, 100-108.

Markel TA, Engelstad H, and Poindexter BB. 2014. Predicting Disease Severity Of Necrotizing Enterocolitis: How To Identify Infants For Future Novel Therapies. J Clin Neonatol, 3, 1-9.

Marmi. 2012. Asuhan Kebidanan Pada Masa Nifas "Peuperium Care". Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Mehta R and Petrova A. 2011. Biologically active breast milk proteins in association with very preterm delivery and stage of lactation. J Perinatol 31, 58–62.

Melville J. 2013. The immune consequences of preterm birth. Neuroendocrine Science. 2013 May:Volume 7.

Menard D and Pothier P. 1991. Radioautographic localization of epidermal growth factor receptors in human fetal gut. Gastroenterology. 101:640–649.

Milsom SR, Blum WF, Gunn AJ. 2008. Temporal changes in insulin-like growth factors I and II and in insulin-like growth factor binding proteins 1, 2, and 3 in human milk. Horm. Res. 2008; 69:307–311.

Murali SG, Nelson DW, Draxler AK, Liu X, Ney DM. 2005. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) attenuates jejunal atrophy in association with increased expression of IGF-I binding protein-5 in parenterally fed mice. J. Nutr. 2005; 135(11):2553–2559.

Mussap M, Noto A, Cibecchini F, and Fanos V. 2013. The Importance Of Biomarkers In Neonatology. Seminars In Fetal and Neonatal Medicine. Elsevier, 56-64.

Nanny, LD Vivian dan Sunarsih T. 2011. Asuhan Kebidanan Pada Ibu Nifas. Jakarta: Salemba Medika.



Natile M, Ventura ML, Colombo M, Bernasconi D, Locatelli A, Plevani C. 2014. 'Short-term respiratory outcomes in late preterm infants', *Italian Journal of Pediatrics*. Vol, 40, hh. 52.

Neu J, Mshvildadze M, and Mai V. 2008. A Roadmap For Understanding and Preventing Necrotizing Enterocolitis. *Current Gastroenterology Reports*, 10, 450-457.

Neu J and Walker WA. 2011. Necrotizing Enterocolitis. *New England Journal Of Medicine*, 364, 255-264.

Neville MC, Morton J, Umemura S. 2011. The evidence for breastfeeding, *Pediatr Clin North Am* 48:42.

Nicolau NMN, Poletti J, Marconi C, Peracoli JC, Miot HA, Silva MG. 2017. Human Beta Defensins 1, 2, and 3 Produced by Amniochorion Membranes Is Similar in Term and Preterm Delivery. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology*; 7: 846-857.

Ng PC. 2014. Biomarkers Of Necrotising Enterocolitis. *Seminars In Fetal and Neonatal Medicine*, Elsevier, 33-38.

Ng PC, Ang IL, Chiu RWK, Li K, Lam HS, Wong RPO, Chu KM, Cheung HM, Ng EWY, Fok TF, Sung JJY, Lo YMD, and Poon TCW. 2010. Host-Response Biomarkers For Diagnosis Of Late-Onset Septicemia and Necrotizing Enterocolitis In Preterm Infants. *The Journal Of Clinical Investigation*, 120, 2989-3000.

Nzegwu NI, Ehrenkranz RA. 2014. Post-discharge nutrition and the VLBW Infant: To supplement or not supplement ? *J Clin Perintol* 02: 1-11.

Ohned K, Ulshen MH, Fuller CR, D'Ercole AJ. 1997. Enhanced growth of small bowel in transgenic mice expressing human insulin-like growth factor I. *Gastroenterology*. 1997; 112:444-454.

Olariu L, Olariu G, Ognean L, Marginean O Boia. 2014. Necrotizing Enterocolitis In Preterm Infants With Gestational Age < 32 Weeks In Rumania: Incidence and Risk Factors. *Jurnalul Pediatrului*, 17,36-41.

Otte JM, Werner I, Brand S, Chromik AM, Schmitz F, Kleine M, Schmidt WE. 2008. Human Beta Defensin 2 Promotes Intestinal Wound Healing. *Journal of Cellular Biochemistry* 104: 2286—2297.



Ozen S, Akisu M, Baka M, Yalaz M, Sozmen EY, Berdeli A, Kultursay N. 2005. Insulin-like growth factor attenuates apoptosis and mucosal damage in hypoxia/reoxygenation-induced intestinal injury. *Biol Neonate*. 2005; 87:91–6.

Pang T, Leach ST, Katz T, Day AS, Ooi CY. 2014. Fecal Biomarker of Intestinal Health and Disease in Children. *Front Pediatr*; 2(6): 1-12.

Park CW, Kim SM, Park JS, Jun JK, Yoon BH. 2014. Fetal, amniotic and maternal inflammatory responses in early stage of ascending intrauterine infection, inflammation restricted to chorio-decidua, in preterm gestation. *J Matern Fetal Neonatal Med* [2014].

Park CW, Park JS, Moon KC, Jun JK, Yoon BH. 2016. Preterm labor and preterm premature rupture of membranes have a different pattern in the involved compartments of acute histologic chorioamnionitis and/or funisitis: Patho-physiologic implication related to different clinical manifestations. *Pathol Int*. 2016 Jun;66(6):325-32. doi: 10.1111/pin.12412.

Parker MG, Fengxiu Ouyang, Colleen Pearson, Matthew W Gillman, Mandy B Belfort, Xiumei Hong, Guoying Wang, Linda Heffner, Barry Zuckerman, and Xiaobin Wang. 2016. Prepregnancy body mass index and risk of preterm birth: association heterogeneity by preterm subgroups. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2014 14:153.

Patel AL, Johnson TJ, Engstrom JL, Fogg LF, Jegier BJ, Bigger HR, Meier PP. 2015. Impact of early human milk on sepsis and health-care costs in very low birth weight infants. *J Perinatol* 33(7):514–519.

Peelen MJ, Kazemier BM, Ravelli AC, De Groot CJ, Van Der Post JA, Mol BW, Hajenius PJ, Kok M. 2016. Impact of fetal gender on the risk of preterm birth, a national cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2016 Sep;95(9):1034-41. doi: 10.1111/aogs.12929. Epub 2016 Jun 13.

Peterson CA, Gillingham MB, Mohapatra NK, Dahly EM, Adamo ML, Carey HV, Lund PK, Ney DM. 2000. Enterotrophic effect of insulin-like growth factor-I but not growth hormone and localized expression of insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor binding protein-3 and -5 mRNAs in jejunum of parenterally fed rats. *JPEN*. 2000; 24(5):288–295.

Philipps AF, Dvorak B, Kling PJ, Grille JG, Koldovsky O. 2000. Absorption of milk-borne insulin-like growth factor-I into portal blood of suckling rats. *JPGN*. 31:128–135.



Philipps AF, Kling PJ, Grille JG, Dvorak B. 2002. Intestinal transport of insulin-like growth factor-I (IGF-I) in the suckling rat. *JPGN*. 2002; 35:539–544.

Primadi A. 2010. Pemberian ASI pada Bayi Lahir Kurang Bulan, dalam Suradi, R, Hegar, B, Partiw, IGAN, Marzuki, ANS, Ananta, Y (eds), Indonesia Menyusu, edk 1, Jakarta: IDAI, hh. 108-119.

Prosser CG, Sankaran L, Hennighausen L, and Topper YJ. 1987. Comparison of the roles of insulin and insulin-like growth factor I in casein gene expression and in the development of alpha-lactalbumin and glucose transport activities in the mouse mammary epithelial cell. *Endocrinology*, 120(4), 1411-1416.

Prosser CG. 1996. Insulin-like growth factors in milk and mammary gland. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 1(3), 297-306.

Prosser CG, Fleet IR and Corps AN. 1989. Increased secretion of insulin-like growth factor I into milk of cows treated with recombinantly derived bovine growth hormone. *Journal of Dairy Research*, 56(1), 17-26.

Prosser CG, Fleet IR, Davis AJ, and Heap RB. 1991a. Mechanism of secretion of plasma insulin-like growth factor-I into milk of lactating goats. *Journal of Endocrinology*, 131(3), 459-466.

Prosser CG, Royle C, Fleet IR, and Mephram TB. 1991b. The galactopoietic effect of bovine growth hormone in goats is associated with increased concentrations of insulin-like growth factor-I in milk and mammary tissue. *Journal of Endocrinology*, 128(3), 457-463.

Prosser CG and Schwander J. 1996. Influence of insulin-like growth factor-binding protein-2 on plasma clearance and transfer of insulin-like growth factors-I and -II from plasma into mammary-derived lymph and milk of goats. *Journal of Endocrinology*, 150(1), 121-127.

Radulescu A, Zhang HY, Chen CL, Chen Y, Zhou Y, Yu X, Otabor I, Olson JK, Besner GE. 2011. Heparin-Binding EGF-Like Growth Factor promotes intestinal anastomotic healing. *J. Surg. Res*. 2011; 171:540–550.

Raju T. 2013. Moderately Preterm, Late Preterm and Early Term Infant: Research Needs. *Clin. Perinatol*. December. 40(4).

Rasmussen MH, Frystyk J, Breum L, Christiansen JS, Hilsted J. 1994. The impact of obesity, fat distribution, and energy restriction on insulin-like growth factor-1 (IGF-1), IGF-binding protein-3, insulin, and growth

hormone. *Metabolism - Clinical and Experimental*, Volume 43, Issue 3, 315 - 319.

Rasmussen S, Ebbing C, Irgens LM. 2017. Predicting preeclampsia from a history of preterm birth. *PLOS ONE* 12(7): e0181016.

Rao LV, Wikarczuk ML, Heyner S. 1990. Functional roles of insulin and insulinlike growth factors in preimplantation mouse embryo development. *In Vitro Cell Dev Biol.* 1990 Nov;26(11):1043-8.

Reisinger KW, Kramer BW, Van Der Zee DC, Brouwers HAA, Buurman WA, Van Heurn E, and Derikx JPM. 2014. Non-Invasive Serum Amyloid A (SAA) Measurement and Plasma Platelets For Accurate Prediction Of Surgical Intervention In Severe Necrotizing Enterocolitis (Nec). *Plos One*, 9, E90834.

Reza Omani-Samani, Mehdi Ranjbaran, Payam Amini, Arezoo Esmailzadeh, Mahdi Sepidarkish, and Amir Almasi-Hashiani. 2017. Adverse maternal and neonatal outcomes in women with preeclampsia in Iran, *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*.

Richter M, Topf HG, Gröschl M, Fröhlich T, Tzschoppe A, Wenzl TG, Köhler H. Influence of gestational age, caesarean section, and type of feeding on fecal human beta-defensin 2 and tumor necrosis factor-alpha. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010 Jul;51(1):103-5).

Riksani R. 2012. *Keajaiban ASI (Air Susu Ibu)*. Jakarta: Dunia Sehat.

Riordan J. 2004. *Breastfeeding and human lactation* (3e éd.). Sudbury, Massachusetts: Jones and Bartlett publishers.

Ross M, Francis GL, Szabo L, Wallace JC, and Ballard FJ. 1989. Insulin-like growth factor (IGF) binding proteins inhibit the biological activities of IGF-I and IGF-II but not des-(1-3) IGF-I, a potent IGF analogue, on growth hormone and IGF binding protein secretion from cultured rat anterior pituitary cells. *J. Endocrinol.* 130:93-9.

Ruiz Milagros, Peter Goldblatt, Joana Morrison, Lubomir Kukla, Jan Švancara, Marjo Riitta-Järvelin, Anja Taanila, Marie-Josèphe Saurel-Cubizolles, Sandrine Lioret, Chryssa Bakoula, Alexandra Veltsista, Daniela Porta, Francesco Forastiere, Manon van Eijsden, Tanja G M Vrijkotte, Merete Eggesbø, Richard A White, Henrique Barros, Sofia Correia, Martine Vrijheid, Maties Torrent, Marisa Rebagliato, Isabel Larrañaga. 2015. Mother's education and the risk of preterm and small for gestational age



birth: a DRIVERS meta-analysis of 12 European cohorts. *J Epidemiol Community Health* 2015;69:826–833.

Sara VR and Hall K. 1990. Insulin-like growth factors and their binding proteins. *Physiol Rev.* 1990 Jul;70(3):591-614.

Samani AA, Yakar S, LeRoith D, and Brodt P. 2007. The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights. *Endocr Rev.* 28(1): 20-47.

Sanyoto D and Eveline PN. 2008. Air susu ibu dan hak bayi bedah ASI. Jakarta: Ikatan Dokter Anak Indonesia Cabang DKI Jakarta.

Schurinek M, Scholten IG, Kooi EM, Hulzebos CV, Kox RG, Groen H, Heineman E, Bos AF, and Hulscher JB. 2014. Intestinal Fatty Acid-Binding Protein In Neonates With Imminent Necrotizing Enterocolitis. *Neonatology*, 106, 49-54.

Schanler RJ, Lau C, Hurst NM, and Smith EO. 2005. Randomized trial of donor human milk versus preterm formula as substitutes for mothers' own milk in the feeding of extremely premature infants. *Pediatrics*, 116(2):400–406.

Schneider JJ, Unholzer A, Schaller M, Korting MS, Koritng HC. Human Defensins. *Journal of Molecular Medicine*; 83(8):587-595.

Schober DA, Simmen FA, Hadsell DL, and Baumrucker CR. 1990. Perinatal expression of type I IGF receptors in porcine small intestine. *Endocrinology*. 1990 Feb;126(2):1125-32.

Shamay A, Cohen N, Niwa M, and Gertler A. 1988. Effect of insulin-like growth factor I on deoxyribonucleic acid synthesis and galactopoiesis in bovine undifferentiated and lactating mammary tissue in vitro. *Endocrinology*. 1988 Aug;123(2):804-9.

Siddiqui I, Majid H, Abid S. 2017. Update on clinical and research application of fecal biomarkers for gastrointestinal disease. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*; 8(1): 39-46.

Shimamoto GT, Byatt JC, Jennings MG, Comens-Keller PG, and Collier RJ. 1992. Destripeptide insulin-like growth factor-I in milk from bovine somatotropin-treated cows, *Pediatr. Res.* 32 (1992) 296–300.

Sibai BM. 2006. Preeclampsia as a cause of preterm and late preterm (near-term) births. *Semin Perinatol*. 2006 Feb;30(1):16-9.



Sidauruk RJ, Amir I, Kadim M, Said M. 2014. Faktor Risiko yang Mempengaruhi Kolonisasi Mikroflora Saluran Cerna Neonatus Kurang Bulan dengan Enterokolitis Nekrotikan. *Sari Pediatri*, 15 353-360.

Simmen FA, Simmen RC, Reinhart G. 1988. Maternal and neonatal somatomedin C/ Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF binding proteins during early lactation in the pig. *Dev Biol*. 1988 Nov;130(1):16-27.

Simonsen SE, Lyon JL, Stanford JB, Porucznik CA, Esplin MS, Varner MW. 2013. Risk factors for recurrent preterm birth in multiparous Utah women: a historical cohort study. *BJOG*. 2013 Jun;120(7):863-72.

Soeorg H, Huik K, Parm U, Ilmoja ML, Metelskaja N, Metsvaht T, Lutsar I. 2013. Genetic relatedness of coagulase-negative staphylococci from gastrointestinal tract and blood of preterm neonates with late-onset sepsis. *Pediatr Infect Dis J* 32, 389–393.

Spearman PW, Camacho-Gonzalez A, and Stoll BJ. 2013. Neonatal infectious diseases: evaluation of neonatal sepsis. *Pediatr Clin North Am* 60, 367–389.

Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, Lemons JA, Donovan EF, Stark AR, Tyson JE, Bauer CR, Korones SB, Shankaran S, Laptook AR, Stevenson DK, Papile L, and Poole WK. 2002. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* 110, 285–291.

Stout G, Lamber DK, Baer VL, Gordo P, Wiedmeier, Stoddart RA, Miner CA. 2008. Necrotizing Enterocolitis during the First Week of Life. *Journal of Perinatology*, 28, 556-560.

Strunk T, Doherty D, Richmond P, Simmer K, Charles A, Levy O, Liyanage K, Smith T, Currie A, Burgner D. 2009. Reduced levels of antimicrobial proteins and peptides in human cord blood plasma. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 94, F230–F231.

Suikkari AM. 1989. Insulin-like growth factor (IGF-I) and its low molecular weight binding protein in human milk, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol*. 30 (1989) 19–25.

Sullivan S, Schanler RJ, Kim JH, Patel AL, Trawöger R, Kiechl-Kohlendorfer U. 2010. An Exclusively Human Milk-Based Diet Is Associated with a Lower Rate of Necrotizing Enterocolitis than a Diet of Human Milk and Bovine Milk-Based Products. *Journal of Pediatrics*. 2010 Apr;156(4)



Svenvik M, Brudin L, and Blomberg M. 2015. Preterm Birth: A Prominent Risk Factor for Low Apgar Scores. *BioMed Research International*, vol. 2015, Article ID 978079, 8 pages, doi:10.1155/2015/978079.

Tanner SM, Berryhill TF, Ellenburg JL, Jilling T, Cleveland DS, Lorenz RG, and Martin CA. 2015. Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis. Modelling the Innate Immune Response. *Am J Pathol* 2015, 185: 4-16.

Tavakkol A, Simmen FA, Simmen RCM. 1988. Porcine insulin-like growth factor-I (pIGF-I): complementary deoxyribonucleic acid cloning and uterine expression of messenger ribonucleic acid encoding evolutionarily conserved IGF-I peptides. *Mol Endocrinol*. 2:674-81

Terrin G, Scipione A, Curtis M. 2014. Update in Pathogenesis and Prospective in Treatment of Necrotizing Enterocolitis. *BioMed Research International*.1-8

Theiss AL, Fruchtmann S, Lund PK. 2004. Growth factors in inflammatory bowel disease: the actions and interactions of growth hormone and insulin-like growth factor-I. *Inflamm Bowel Dis*. 2004; 10:871-880.

Thuijls G, Derikx JP, Van Wijck K, Zimmermann LJ, Degraeuwe PL, Mulder TL, Van Der Zee DC, Brouwers HA, Verhoeven BH, and Van Heurn LE. 2010. Non-Invasive Markers For Early Diagnosis and Determination Of The Severity Of Necrotizing Enterocolitis. *Annals Of Surgery*, 251, 1174-1180.

Tsai LY, Chen YL, Tsou KI, Mu SC. 2015. The impact of small-for-gestational-age on neonatal outcome among very-low-birth-weight infants. [Pediatr Neonatol](#). 2015 Apr;56(2):101-7.

Torrazza RM, Li N, Young C, Kobeiss F, Chow M, Chen S, Mai V, Sharma R, Hudak M, and Shuster J. 2013. Pilot Study Using Proteomics To Identify Predictive Biomarkers Of Necrotizing Enterocolitis From Buccal Swabs In Very Low Birth Weight Infants Running Title: Necrotizing Enterocolitis Biomarkers. *Neonatology*, 104.

Tourneur E and Chassin C. 2013. Neonatal Immune Adaptation of The Gut and Its Role during Infections. *Clinical and Developmental Immunology*, 1-13.

Tovar V, Alsinet C, Villanuev A, Hoshida Y, Chiang DY, Solé M, ... Llovet JM. 2010. IGF Activation In A Molecular Subclass of Hepatocellular Carcinoma and Pre-Clinical Efficacy of IGF-1R Blockage. *Journal of Hepatology*, 52(4), 550-559.



Trend S, Strunk T, Lloyd ML, Kok CH, Metcalfe J, Geddes DT, Lai CT, Richmond P, Doherty DA, Simmer K, and Currie A. 2016. Levels of innate immune factors in preterm and term mother's breast milk during the 1st month postpartum. *British Journal of Nutrition*, 115, 1178–1193.

Ulm H, Wilmes M, Shai Y, Sahl HG. 2012. Microbial host defensins-specific antibiotic activities and innate defense modulation. *Immunology*, 3(249):1-4.

Underwood MA, Arriola J, Gerber CW, Kaveti A, Kalanetra KM, Kananurak A, Bevins CL, Mills DA, and Dvorak B. 2014. BifLongum Susp. Infantis In Experimental Necrotizing Enterocolitis: Alterations In Inflammation, Innate Immune Response and The Microbiota. *Pediatric Research*, 76, 326-333.

Van Haver ER, Sangild PT, Oste M, Siggers JL, Weyns AL, and Van Ginneken CJ. 2009. Diet-Dependent Mucosal Colonization and Interleukin-1 β Responses In Preterm Pigs Susceptible To Necrotizing Enterocolitis. *Journal Of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 49, 90-98.

Vega JR, Gibson TC, Skaar DL, Hadsell, and Baumrucker. 1991. Insulin-like growth factor (IGF)-I and -II and IGF binding proteins in serum and mammary secretions during the dry period and early lactation in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 69:2538-2547.

Veldhuis JD and Iranmanesh A. 1996. Physiological regulation of the human growth hormone (GH)-insulin-like growth factor type I (IGF-I) axis: predominant impact of age, obesity, gonadal function, and sleep. *Sleep*. 1996 Dec;19(10 Suppl): S221-4.

Von Beckerath AK, Kollmann M, Rotky-Fast C, Karpf E, Lang U, and Klaritsch P. 2013. 'Perinatal complications and long-term neurodevelopmental outcome of infants with intrauterine growth restriction', *Am J Obstet Gynecol.* vol. 208, no. 2, hh. 130.e1-6.

Vorherr H, 1974. *The Breast: Morphology, Physiology and Lactation*. New York: Academic Press.

Walker A. 2010. Breast milk as the gold standard for protective nutrients. 2010. *J. Pediatr.*, 156, 53-57.

Wanda D. 2016. Dalam. <https://www.uptodate.com/contents/late-preterm-infants>.



Woelfle J, Chia DJ, Rotwein P. 2003. Mechanisms of growth hormone (GH) action. Identification of conserved Stat5 binding sites that mediate GH-induced insulin-like growth factor-I gene activation. *J Biol Chem*. 2003 Dec 19;278(51):51261-6.

World Health Organization. 2012. March of Dimes, The Partnership for Maternal Newborn and Child Health (2012) *Born Too Soon: The Global Action Report on Preterm Birth*. Geneva: WHO.

World Health Organization. 2015. WHO recommendations on interventions to improve preterm birth outcomes.

Yang H, Grahn M, Schalch DS, Ney DM. 1994. Anabolic effect of IGF-I coinjected with total parenteral nutrition in dexamethasone-treated rats. *Am J Physiol*. 1994; 266:E690-8.

Yee WH, Soraisham AS, Shah V, Aziz, K. 2011. Incidence and Timing of Presentation of Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants. *Pediatrics*, 129, 298-305.

Young C, Sharma R, Handfield M, Mai V, and Neu J. 2009. Biomarkers For Infants At Risk For Necrotizing Enterocolitis: Clues To Prevention? *Pediatric Research*, 65, 91r-97r.

Yu H and Rohan T. 2000. Role of the insulin-like growth factor family in cancer development and progression. *J Natl Cancer Inst* 92: 1472-1489.

Zabielski R, Godlewski M, Guilloteau P. 2008. Control of Development of Gastrointestinal System in Neonates. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 59, 35-54.

Zeitlin J, Saurel-Cubizolles MJ, De Mouzon J, Rivera L, Ancel PY, Blondel B, Kaminski M. 2002. Fetal sex and preterm birth: are males at greater risk? *Hum Reprod*. 2002 Oct;17(10):2762-8.

Zhang W, Frankel WL, Adamson WT, Roth JA, Mantell MP, Bain A, Ziegler TR, Smith RJ, Rombeau JL. 1995. Insulin-like growth factor-I improves mucosal structure and function in transplanted rat small intestine. *Transplantation*. 59:755-61.

Zhao X, McBride BW, Trouten-Radford LM, Golfman L, Burton JH. 1994. Somatotropin and insulin-like growth factor-I concentrations in plasma and milk after daily or sustained-release exogenous somatotropin administrations. *Domest Anim Endocrinol*. 1994 Apr;11(2):209-16.



Zhou M, Cheng S, Yu J, and Lu Q. 2015. Interleukin for Diagnosis of Neonatal Sepsis: A Meta-Analysis. PLoS ONE 10(5).

Zijlstra RT, Donovan SM, Odle J. 1994. Use of the piglet to study the role of growth factors in neonatal intestinal development. Endocr Regul. 1994 Dec;28(4):153-62.

Zoppelli L, Guttel C, Bittrich HJ, Andree C, Wirth S, Jenke A. 2012. Fecal Calprotectin Concentration in Premature Infants Have a Lower Limit and Show Postnatal and Gestational Age Dependence. Neonatology, 102: 68-74.



Lampiran 1. Hasil Uji Statistik

A. Karakteristik Dasar Sampel Penelitian

Usia Ibu

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	2	21	43,8	87,5	87,5
	3	3	6,3	12,5	100,0
	Total	24	50,0	100,0	
Missing	System	24	50,0		
Total		48	100,0		

BMI Ibu

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	2	11	22,9	45,8	45,8
	3	7	14,6	29,2	75,0
	4	6	12,5	25,0	100,0
	Total	24	50,0	100,0	
Missing	System	24	50,0		
Total		48	100,0		

Pendidikan Ibu

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1	4	8,3	16,7	16,7
	2	5	10,4	20,8	37,5
	3	6	12,5	25,0	62,5
	4	9	18,8	37,5	100,0
	Total	24	50,0	100,0	
Missing	System	24	50,0		
Total		48	100,0		

**Pekerjaan Ibu**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1	12	25,0	50,0	50,0
	2	1	2,1	4,2	54,2
	3	1	2,1	4,2	58,3
	4	10	20,8	41,7	100,0
	Total	24	50,0	100,0	
Missing	System	24	50,0		
Total		48	100,0		

Paritas Ibu

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1	4	8,3	16,7	16,7
	2	8	16,7	33,3	50,0
	3	9	18,8	37,5	87,5
	4	3	6,3	12,5	100,0
	Total	24	50,0	100,0	
Missing	System	24	50,0		
Total		48	100,0		

Perokok Aktif

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1	3	6,3	12,5	12,5
	2	21	43,8	87,5	100,0
	Total	24	50,0	100,0	
Missing	System	24	50,0		
Total		48	100,0		

PE/E

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1	5	10,4	20,8	20,8
	2	19	39,6	79,2	100,0
	Total	24	50,0	100,0	
Missing	System	24	50,0		
Total		48	100,0		

**PROM Ibu**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1	13	27,1	54,2	54,2
	2	11	22,9	45,8	100,0
	Total	24	50,0	100,0	
Missing	System	24	50,0		
Total		48	100,0		

Korioamnionitis

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1	5	10,4	20,8	20,8
	2	19	39,6	79,2	100,0
	Total	24	50,0	100,0	
Missing	System	24	50,0		
Total		48	100,0		

Seks Bayi

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1	8	16,7	33,3	33,3
	2	16	33,3	66,7	100,0
	Total	24	50,0	100,0	
Missing	System	24	50,0		
Total		48	100,0		

Persalinan Ibu

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1	9	18,8	37,5	37,5
	2	15	31,3	62,5	100,0
	Total	24	50,0	100,0	
Missing	System	24	50,0		
Total		48	100,0		



Statistics

		Usia Gestasi	BBL	AS 1	AS 5
N	Valid	24	24	24	24
	Missing	24	24	24	24
Mean		32,29	2031,79	4,88	6,63
Median		33,00	2026,00	5,50	7,00
Std. Deviation		5,591	911,965	1,777	1,689
Minimum		24	800	1	3
Maximum		40	4080	7	9
Sum		775	48763	117	159

Report

BBL

Kelompok BBL	Mean	Std. Deviation	N	Median
1	3296,00	454,348	6	3240,00
2	2179,63	184,699	8	2230,00
3	1264,57	135,989	7	1250,00
4	899,33	86,031	3	948,00
Total	2031,79	911,965	24	2026,00

Report

Kelompok BBL		AS 1	AS 5
1	Median	6,00	7,50
	Minimum	6	7
	Maximum	7	9
2	Median	5,00	7,00
	Minimum	3	5
	Maximum	7	9
3	Median	5,00	7,00
	Minimum	3	5
	Maximum	6	8
4	Median	1,00	3,00
	Minimum	1	3
	Maximum	5	7
Total	Median	5,50	7,00
	Minimum	1	3
	Maximum	7	9



B. Uji Korelasi Variabel Penelitian

Correlations

		IGF ASI Transisi	Usia Gestasi
IGF ASI Transisi	Pearson Correlation	1	,611**
	Sig. (2-tailed)		,002
	N	24	24
Usia Gestasi	Pearson Correlation	,611**	1
	Sig. (2-tailed)	,002	
	N	24	24

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Correlations

		HBD2 Feses	Kelompok Sampel
HBD2 Feses	Pearson Correlation	1	-.725**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	24	24
Kelompok Sampel	Pearson Correlation	-.725**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	24	24

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



Lampiran 3. Pernyataan Persetujuan Untuk Berpartisipasi Dalam Penelitian

PENJELASAN UNTUK MENGIKUTI PENELITIAN

1. Saya, Dr. Bayu Kurniawan, Sp. A dari Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan ini meminta persetujuan ibu untuk berpartisipasi bersama bayi ibu dengan sukarela dalam penelitian yang berjudul: **Kadar *Insulin-like Growth Factor-1* Air Susu Ibu dan *Human Beta Defensin-2* Feses Neonatus terhadap Luaran Klinis Neonatus.**
2. Tujuan dari penelitian ini adalah:
 1. Membuktikan adanya perbedaan kadar IGF-1 ASI transisi dari ibu dengan bayi kurang bulan (neonatus *extremely preterm*, *very preterm* atau *mild preterm*) dan bayi cukup bulan.
 2. Membuktikan terdapat hubungan kadar IGF-1 ASI transisi dengan usia kehamilan ibu.
 3. Membuktikan adanya perbedaan kadar HBD-2 feses dari bayi kurang bulan (neonatus *extremely preterm*, *very preterm* atau *mild preterm*) dan bayi cukup bulan.
 4. Membuktikan terdapat hubungan kadar HBD-2 feses bayi dengan usia kehamilan ibu.
 5. Membuktikan hubungan antara kadar IGF-1 ASI transisi dengan HBD-2 feses pada bayi kurang bulan (neonatus *extremely preterm*, *very preterm*, *mild preterm*) dan bayi cukup bulan.
 6. Mengetahui kadar IGF-1 ASI transisi dan HBD-2 feses bayi terhadap luaran klinis bayi yang menjadi sampel penelitian.

Dan dapat memberi manfaat sebagai berikut:

Dalam bidang ilmu pengetahuan

Hasil penelitian ini untuk mengetahui perbedaan dan hubungan antara kadar IGF-1 ASI dengan kadar HBD-2 feses pada bayi kurang bulan dan bayi cukup bulan; HBD-2 sebagai biomarker inflamasi non-invasif, sehingga dapat diketahui pengaruhnya terhadap risiko inflamasi lokal saluran pencernaan, khususnya pada bayi kurang bulan.



Dalam bidang pelayanan kesehatan

Hasil penelitian ini dapat membuktikan manfaat pemberian ASI eksklusif pada bayi baru lahir khususnya bayi kurang bulan, sehingga menunjang data ilmiah dalam upaya pencegahan inflamasi dan infeksi lokal pada saluran pencernaan, yang diharapkan dapat mengurangi angka kesakitan dan kematian bayi kurang bulan.

Penelitian ini akan berlangsung selama 3 bulan. Dalam penelitian ini akan dievaluasi kadar IGF-1 sampel ASI dari ibu dengan bayi kurang bulan (prematur) atau bayi cukup bulan (aterm). IGF-I dalam ASI diduga memiliki fungsi anti radang/ infeksi dan anti kematian sel dini, yang memiliki efek perlindungan bagi bayi kurang bulan dan cukup bulan.

Prosedur pengambilan sampel air susu ibu dapat dilakukan oleh ibu sendiri di ruang menyusui neonatologi RSUD Dr. Saiful Anwar Malang. Sebelum ibu memerah ASI, diharuskan mencuci tangan 6 langkah terlebih dahulu. Bila ibu berkenan berpartisipasi dalam penelitian ini, akan kami terangkan prosedur mencuci tangan dan memerah ASI. Sampel akan kami ambil dari air susu ibu dengan bayi kurang bulan atau cukup bulan sebanyak ± 50 ml. ASI yang dikumpulkan harus memenuhi syarat pengambilan, antara lain ditempatkan dalam botol kaca yang kami sediakan. Botol kaca yang sudah terisi ASI perah akan diberikan kode oleh peneliti dan disimpan dalam wadah khusus ASI berisi *ice pack* untuk menjaga kestabilan suhu ASI, dan selanjutnya dikirim ke Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, dalam waktu kurang dari 4 jam untuk disimpan di lemari pendingin sampel ASI dengan suhu -20°C sebelum dilakukan analisis.

Penelitian ini juga akan mengevaluasi kadar HBD-2 sampel feses dari bayi ibu yang kurang bulan (prematur) atau cukup bulan (aterm). Pemeriksaan HBD-2 feses merupakan salah satu pilihan pemeriksaan biomarker inflamasi non-invasif yang diharapkan mampu mendeteksi dini inflamasi saluran pencernaan pada bayi ibu.

Prosedur pengambilan sampel feses bayi akan kami lakukan pada hari ke-10 pasca persalinan dengan menggunakan tabung sampel feses yang bersih.



Tabung yang sudah terisi sampel feses akan diberikan kode oleh peneliti dan disimpan dalam wadah khusus berisi *ice pack* untuk menjaga kestabilan suhu sampel, dan selanjutnya dikirim ke Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, dalam waktu kurang dari 1 jam untuk disimpan di lemari pendingin sampel dengan suhu -20°C sebelum dilakukan analisis.

3. Keuntungan yang ibu peroleh dalam keikutsertaan adalah mendapatkan hasil tentang kadar IGF-1 ASI sendiri dan kadar HBD-2 feses bayi ibu, yang diharapkan bisa menjadi informasi ibu tentang kadar zat anti radang/ infeksi dari air susu ibu dan kondisi saluran pencernaan bayi, sehingga dapat memberikan gambaran manfaat perlindungan ASI terhadap saluran pencernaan bayi ibu.

4. Seandainya ibu tidak menyetujui keterlibatan secara langsung dalam penelitian ini, maka ibu dapat memilih bentuk partisipasi lain sesuai kesediaan ibu atau boleh tidak mengikuti penelitian ini sama sekali, dan kami memberikan jaminan tidak akan mempengaruhi pelayanan rumah sakit terhadap ibu dan bayinya.

5. Orang tua pasien yang secara sukarela berpartisipasi dalam penelitian ini, akan kami sampaikan terima kasih dan pemberian cinderamata.

6. Nama dan jati diri ibu dan bayi akan kami rahasiakan sesuai kode etik penelitian.

7. Keputusan ini dibuat ibu bayi setelah menerima penjelasan dari peneliti.

Peneliti

(Dr. Bayu Kurniawan, Sp. A)



PERNYATAAN PERSETUJUAN UNTUK BERPARTISIPASI DALAM PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa:

1. Saya telah mengerti tentang apa yang tercantum dalam lembar penjelasan di atas dan telah dijelaskan oleh peneliti.
2. Dengan ini saya menyatakan bahwa secara sukarela bersedia / tidak bersedia *) untuk ikut serta menjadi salah satu subjek penelitian yang berjudul: **Kadar *Insulin-like Growth Factor-1* Air Susu Ibu dan *Human Beta Defensin-2* Feses Neonatus terhadap Luaran Klinis Neonatus.**

Malang, 2019

Peneliti

Yang membuat pernyataan

Dr. Bayu Kurniawan, Sp.A

(.....)

NIM. 136070100011018

Saksi 1

Saksi 2

(.....)

(.....)

*) Coret salah satu