

PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN DAN JENIS SPESIMEN AIR SUSU IBU TERHADAP TITER ANTIBODI GOLONGAN DARAH O

*Effect of Storage Time and Type of Breast Milk Specimen on Blood Group O
Antibody Titer*

Riski Nur Ramadhani^{1*}, Ganjar Noviar^{2*}, Eem Hayati^{3*}, Betty Nurhayati^{4*}

^{1, 2, 3, 4*} Program Studi Sarjana Terapan, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis,
Poltekkes Kemenkes Bandung

Email: riskinr13@gmail.com

ABSTRACT

Antibody titer and specificity on red blood cells affect the severity of a disease. Breast milk contains secretory IgA, IgM, and IgG which function as the first line of defense against mucosal infections. The purpose of this study was to look at the description and effect of storage time of different types of breast milk specimens on antibody titers for blood group O. The design of this study was quasi-experimental, namely two groups of breast milk specimens and supernatants were made. The two groups of breast milk were stored at room temperature with variations in storage time, then examined using the hemagglutination tube method. The results of the five examination data showed the range of A and B $\frac{11}{22} - \frac{11}{88}$ antibody titers. Meanwhile, the ASI supernatant showed a range of A and B $\frac{11}{22} - \frac{1}{3232}$ antibody titers, where the more milk specimens and the ASI supernatant were stored the longer the antibody titers decreased. The results of the Wilcoxon test showed that the ASI specimen had a p (sig) value of 0.034 and the supernatant ASI had a p (sig) value of 0.039. This indicates that there are differences in antibody titers in the breast milk specimens and the breast milk supernatant which were immediately examined and stored for 4 hours at room temperature. While the results of the Friedman test on the type of breast milk specimens showed p (sig) 0.257 so it was concluded that there was no significant difference in the distribution of antibody titer examination data.

Keywords: Breast Milk Specimen, Breast Milk Supernatant, Antibody Titer, Storage Time.

ABSTRAK

Titer dan spesifisitas antibodi pada sel darah merah mempengaruhi keparahan suatu penyakit. Air Susu Ibu (ASI) mengandung sekretori IgA, IgM, dan IgG yang berfungsi sebagai pertahanan pertama untuk melawan infeksi mukosa. Tujuan penelitian ini yaitu untuk melihat gambaran dan pengaruh waktu penyimpanan dari jenis spesimen ASI yang berbeda terhadap titer antibodi golongan darah O. Desain penelitian ini adalah kuasi eksperimen yaitu dibuat dua kelompok spesimen ASI dan supernatan ASI. Kedua kelompok ASI tersebut disimpan pada suhu ruang dengan variasi waktu penyimpanan, kemudian diperiksa menggunakan hemaglutinasi metode tabung. Hasil penelitian dari kelima data pemeriksaan menunjukkan rentang titer antibodi A dan B $\frac{11}{22} - \frac{11}{88}$. Sedangkan pada supernatan ASI menunjukkan rentang titer antibodi A dan B $\frac{11}{22} - \frac{1}{3232}$, di mana spesimen ASI dan supernatan ASI semakin disimpan lama maka mengalami penurunan titer antibodi. Hasil uji *Wilcoxon* menunjukkan spesimen ASI dengan nilai p (sig) sebesar 0,034 dan supernatan ASI dengan nilai p (sig) 0,039. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan titer antibodi pada spesimen ASI dan supernatan ASI yang segera diperiksa dan disimpan selama 4 jam pada suhu ruang. Sedangkan hasil uji *Friedman* terhadap jenis spesimen ASI menunjukkan p (sig) 0,257 sehingga disimpulkan bahwa distribusi data pemeriksaan titer antibodi tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

Kata Kunci: Spesimen ASI, Supernatan ASI, Titer Antibodi, Waktu Penyimpanan.

PENDAHULUAN

Golongan darah secara umum dibedakan menjadi empat golongan darah yaitu A, B, O, dan AB¹. Pengklasifikasian golongan darah ditentukan berdasarkan ada atau tidaknya zat antigen pada permukaan membran sel darah merah serta antibodi dalam serum². Salah satu pemeriksaan yang dapat dilakukan untuk mendeteksi antibodi dalam serum adalah pemeriksaan titer antibodi³.

Titer dan spesifisitas antibodi (anti-D, anti-c, dan anti-K memiliki kemungkinan tertinggi terjadinya penyakit HDFN), kelas imunoglobulin, dan jumlah situs antigenik pada sel darah merah mempengaruhi keparahan suatu penyakit⁴. Penyakit *Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn* (HDFN) berhubungan dengan alloantibodi terhadap lebih dari 50 antigen golongan darah non-ABO dan hal tersebut diperkirakan akan berkurang dalam beberapa minggu setelah melahirkan. Anemia yang mengarah pada hipotesis paparan lanjutan alloantibodi sel darah merah melalui ASI⁵.

Air Susu Ibu (ASI) mengandung sekretori IgA (SigA) yang merupakan imunoglobulin utama dan kemudian diikuti oleh sekretori IgM dan sekretori IgG yang berfungsi sebagai pertahanan pertama untuk melawan infeksi mukosa⁶. Spesimen ASI terdapat berbagai komponen di dalamnya, salah satunya lemak yang dapat menghambat reaksi antigen-antibodi. Sedangkan spesimen ASI ketika disentrifugasi maka akan membentuk 3 bagian yaitu bagian atas yang mengandung lemak, protein yang berupa laktoferin, sitokin, dan komplemen. Kemudian bagian kedua yang berupa supernatan mengandung imunoglobulin A, sel-sel imun seperti netrofil dan makrofag, serta pada bagian pelet (endapan) berupa sel epitel payudara⁷.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Kumar, *et al* pada tahun 2022 disimpulkan bahwa di dalam ASI terdapat berbagai titer untuk antibodi dari sistem golongan darah ABO⁸. Sedangkan jika dilihat dari kadar proteinnya, pada hasil penelitian Ratmawati pada tahun 2016 dapat disimpulkan bahwa penurunan kadar protein terjadi pada ASI yaitu 0 jam sebesar 15,42% dan setelah disimpan selama 4 jam menjadi 14,31%⁹.

Spesimen ASI yang disimpan pada suhu ruang (20 – 25°C) dalam beberapa jam akan terjadi perubahan komposisi. Selain itu juga dapat menyebabkan kontaminasi sampel, pertumbuhan bakteri, atau terjadi denaturasi protein sehingga dapat mempengaruhi validitas hasil analisis¹⁰.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran titer antibodi golongan darah O pada spesimen ASI dan supernatan ASI serta mengetahui pengaruh waktu penyimpanan dan jenis spesimen ASI dalam suhu ruang (20 – 25°C) terhadap titer antibodi sistem golongan darah ABO.

METODE

Desain penelitian yang digunakan yaitu dibuat dua kelompok spesimen ASI dan supernatan ASI. Kedua kelompok ASI tersebut disimpan dalam suhu ruang dengan variasi waktu penyimpanan. Titer antibodi tersebut diperiksa dengan menggunakan hemaglutinasi metode tabung dengan menggunakan subyek ASI dengan ibu golongan darah O.

Tempat pengambilan sampel dilaksanakan di RW 03 Cimahi Utara, Kota Cimahi, Jawa Barat. Pada penelitian ini, data yang dikumpulkan merupakan data primer yang diperoleh dari hasil pemeriksaan nilai titer antibodi A dan B pada spesimen ASI yang diambil pada pagi hari menggunakan pompa ASI elektrik yang kemudian

diperiksa segera dengan hasil pemeriksaan nilai titer antibodi A dan B pada spesimen ASI yang diperiksa 2 jam dan 4 jam setelah penyimpanan dalam suhu ruang (20 – 25°C) yang dilakukan dengan membuat dua kelompok yaitu spesimen ASI dan supernatan ASI.

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan pengaruh waktu penyimpanan spesimen ASI dan supernatan ASI terhadap titer antibodi disajikan dalam bentuk tabel untuk melihat pengaruh masing-masing variabel waktu penyimpanan spesimen ASI dan supernatan ASI. Apabila telah didapatkan data, maka akan diuji normalitasnya. Jika data berdistribusi secara normal maka statistik yang digunakan adalah *General Linear Mode (GLM) Repeated Measure*. Sedangkan jika data yang didapat distribusinya tidak normal, maka menggunakan *Friedman*, kemudian jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon*.

Penelitian ini telah disetujui oleh komite etik dengan No. 23/KEPK/EC/VI/2023.

HASIL

Hasil penelitian dengan menggunakan sebanyak 30 sampel yang terdiri dari 15 sampel ASI dan 15 sampel supernatan ASI yang disajikan pada Tabel 1. Dari ke 30 sampel tersebut didapatkan hasil bahwa rentang nilai titer antibodi A dan B pada spesimen ASI dengan variasi waktu penyimpanan menunjukkan titer minimum adalah $\frac{11}{22}$ dan titer maksimum adalah $\frac{11}{88}$. Sedangkan pada supernatan ASI yang disimpan dengan variasi waktu penyimpanan menunjukkan titer minimum adalah $\frac{11}{22}$ dan titer maksimum adalah $\frac{1}{3232}$.

Tabel 1. Hasil Penelitian

No Sampel	Titer antibodi A dan B											
	Spesimen ASI						Supernatan ASI					
	Antibodi A			Antibodi B			Antibodi A			Antibodi B		
	Waktu Penyimpanan (Jam)											
	0	2	4	0	2	4	0	2	4	0	2	4
1	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
2	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
3	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
4	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
5	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11

Hasil analisis data menggunakan uji statistik *Friedman* dan kemudian dilanjutkan dengan uji statistik *Wilcoxon* terhadap waktu penyimpanan menunjukkan hasil yang disajikan pada Tabel 2. sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Uji Wilcoxon

Kelompok Data	Sig.	Hasil	Kesimpulan
ASI 0 Jam vs 2 Jam	0,157	F > 0,05	Tidak ada perbedaan
ASI 0 Jam vs 4 Jam	0,034	F < 0,05	Ada perbedaan
Supernatan ASI 0 Jam vs 2 Jam	0,039	F > 0,05	Tidak ada perbedaan
Supernatan ASI 0 Jam vs 4 Jam	0,039	F < 0,05	Ada perbedaan

Dari Tabel 2 dapat dilihat pengaruh waktu penyimpanan spesimen ASI terhadap titer antibodi. Hasil uji *Wilcoxon* pada kelompok data spesimen ASI 0 jam vs 2 jam menunjukkan nilai p (sig) 0,157 maka tidak terdapat perbedaan titer antibodi spesimen ASI yang segera diperiksa dan disimpan selama 2 jam. Sedangkan pada kelompok data spesimen ASI 0 jam vs 4 jam menunjukkan nilai p (sig) 0,034 maka terdapat perbedaan titer antibodi spesimen ASI yang segera diperiksa dan disimpan selama 4 jam.

Sedangkan pada hasil uji statistik *Friedman* terhadap jenis spesimen menunjukkan hasil yang disajikan pada Tabel 3. sebagai berikut:

Tabel 3. Hasil Uji *Friedman*

Kelompok Data Jenis Spesimen	Nilai sig	Hasil	Kesimpulan
ASI	0,257	P > 0,05	Tidak ada perbedaan
Supernatan ASI	0,257	P > 0,05	Tidak ada perbedaan

Berdasarkan hasil pada kelompok data supernatan ASI 0 jam vs 2 jam menunjukkan nilai p (sig) 0,059 maka tidak terdapat perbedaan titer antibodi spesimen ASI yang segera diperiksa dan disimpan selama 2 jam. Sedangkan pada kelompok data spesimen ASI 0 jam vs 4 jam menunjukkan nilai p (sig) 0,039 maka terdapat perbedaan titer antibodi spesimen ASI yang segera diperiksa dan disimpan selama 4 jam.

Dengan demikian, untuk spesimen ASI dan supernatan ASI tidak terdapat perbedaan bermakna antara yang segera diperiksa dan disimpan selama 2 jam dan terdapat perbedaan bermakna antara spesimen ASI dan supernatan ASI yang segera diperiksa dan disimpan selama 4 jam pada suhu ruang (20 – 25°C) terhadap titer antibodi golongan darah O.

PEMBAHASAN

Dari kelima data pemeriksaan titer antibodi spesimen ASI menunjukkan titer minimum $\frac{11}{44}$ dan titer maksimum $\frac{11}{88}$ untuk yang segera diperiksa, titer minimum $\frac{11}{44}$ dan titer maksimum $\frac{11}{88}$ untuk yang disimpan selama 2 jam, dan titer minimum $\frac{11}{22}$ dan titer maksimum $\frac{11}{44}$ untuk yang disimpan selama 4 jam, di mana semakin disimpan lama maka mengalami penurunan titer antibodi. Pada supernatan ASI menunjukkan titer minimum $\frac{11}{88}$ dan titer maksimum $\frac{11}{3232}$

untuk yang segera diperiksa, titer minimum $\frac{11}{44}$ dan titer maksimum $\frac{11}{3232}$

untuk yang disimpan selama 2 jam, dan titer minimum $\frac{11}{22}$ dan titer maksimum $\frac{11}{16}$

$\frac{1}{16}$ untuk yang disimpan selama 4 jam, di

mana semakin disimpan lama maka mengalami penurunan titer antibodi.

Setelah dilakukan uji statistik menggunakan uji *Friedman* didapatkan nilai p (sig) 0,003. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon* untuk melihat pengaruhnya didapatkan hasil bahwa spesimen ASI dengan nilai p (sig) 0,034 dan supernatan ASI dengan nilai p (sig) 0,039. Hal ini menunjukkan bahwa secara statistik terdapat perbedaan titer antibodi pada spesimen ASI dan supernatan ASI yang segera diperiksa dan disimpan selama 4 jam pada suhu ruang (20 – 25°C).

Sedangkan untuk uji statistik menggunakan uji *Friedman* dengan membandingkan jenis spesimen ASI terhadap titer antibodi golongan darah O didapatkan nilai p (sig) 0,257. Hal ini menunjukkan bahwa secara statistik tidak terdapat perbedaan titer antibodi pada spesimen ASI dan supernatan ASI terhadap titer antibodi golongan darah O.

Golongan darah O merupakan golongan darah yang memiliki antibodi tetapi tidak memiliki antigen, di mana antibodi yang terdapat di dalam golongan darah O adalah antibodi A dan antibodi B¹¹. Berdasarkan Tabel 1. hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa pada setiap subyek yang diperiksa memiliki nilai titer antibodi A dan B yang sama. Di mana pada spesimen ASI yang diperiksa segera memiliki titer minimum $\frac{11}{22}$ dan titer maksimum $\frac{11}{88}$. Sedangkan pada supernatan ASI yang disimpan dengan variasi waktu penyimpanan menunjukkan titer minimum $\frac{11}{22}$ dan titer maksimum $\frac{11}{3232}$.

Titer dan spesifisitas antibodi (anti-D, anti-c, dan anti-K memiliki kemungkinan tertinggi terjadinya penyakit HDFN), kelas imunoglobulin, dan jumlah situs antigenik pada sel darah merah mempengaruhi keparahan suatu penyakit⁴. Antibodi ibu ditransfer kepada anak, terutama IgG melalui rute transplasenta yang mana sebagian besar IgA melalui ASI¹².

Penurunan titer antibodi pada spesimen ASI dan supernatan ASI yang disimpan selama 4 jam pada suhu ruang (20 – 25°C) terjadi disebabkan karena berbagai faktor yang mempengaruhi komposisi ASI diantaranya yaitu denaturasi protein¹³. Salah satu zat gizi yang diperlukan untuk metabolisme, perkembangan jaringan (pertumbuhan), dan pertahanan terhadap serangan fisik oleh mikroba berbahaya adalah protein yang terdapat dalam ASI⁹.

IgA memiliki struktur protein yang kompleks, sama halnya seperti protein yang lainnya jika terpapar kondisi lingkungan yang tidak sesuai maka IgA juga bersifat rentan terhadap denaturasi. Denaturasi protein IgA dalam ASI dapat mengakibatkan hilangnya struktur dan fungsi biologis IgA, sehingga dapat menyebabkan juga penurunan titer antibodi pada ASI¹⁴.

Denaturasi protein terjadi karena jika struktur tiga dimensi pada protein yaitu struktur sekunder, tersier, dan molekul protein kuarterner mengalami perubahan atau kemungkinan kerusakan yang dapat disebabkan oleh pH yang asam, karena tingkat keasaman susu meningkat seiring dengan peningkatan durasi penyimpanan¹⁵.

Penelitian ini sesuai dengan penelitian Kumar *et al* pada tahun 2022 yang menyatakan bahwa dari 176 ibu menyusui dengan berbagai golongan darah yaitu golongan darah A, B, dan O ditemukan berbagai titer antibodi pada ASI yang berarti secara teori spesimen ASI berfungsi untuk pemeriksaan titer antibodi untuk mengetahui

kemungkinan terjadinya penyakit anemia pada bayi⁸. Pada hasil penelitian Ratmawati pemeriksaan kadar protein pada ASI yang dilakukan terdapat perbedaan yang bermakna antara spesimen ASI yang disimpan selama 0 jam dan 4 jam pada suhu ruang (20 – 25°C)⁹.

Selain itu, kehadiran bakteri yang terdapat di dalam ASI juga dapat menyebabkan denaturasi protein karena laktat bakteri asam aktif melakukan proses proteolisis dan lipolisis sehingga menjadi zat yang dapat dimanfaatkan oleh bakteri sebagai energi. Reaksi ini terjadi karena ASI dapat mengalami lipolisis, yaitu proses hidrolisis ikatan ester lemak (*tryacylglycerols*) yang kemudian menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol, sehingga pada saat mekanisme ini terjadi maka akan menghasilkan air sehingga konsentrasi protein akan menurun¹⁰.

Pada jenis spesimen ASI dan supernatan ASI setelah diuji menggunakan uji *Friedman* didapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna karena nilai p (sig) > 0,05. Berdasarkan hasil pengamatan didapatkan bahwa dengan menggunakan supernatan ASI aglutinasi yang dihasilkan lebih terlihat dengan jelas, selain itu titer antibodi yang dihasilkan juga lebih tinggi karena mengandung IgA spesifik yang terdapat pada lapisan kedua yang berupa supernatan. Selain itu, supernatan ASI mampu menghambat bakteri Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC) dibandingkan dengan spesimen ASI sehingga pertumbuhan bakteri yang dapat menyebabkan denaturasi protein lebih bisa diminimalisir⁷.

SIMPULAN

Hasil uji statistik *Friedman* dan *Wilcoxon* terhadap waktu penyimpanan didapatkan hasil spesimen ASI dan supernatan ASI yang disimpan selama 4 jam pada suhu ruang (20 – 25°C)

terdapat pengaruh waktu penyimpanan terhadap titer antibodi. Sedangkan untuk jenis spesimen ASI didapatkan hasil bahwa tidak terdapat pengaruh antara spesimen ASI dan supernatan ASI terhadap titer antibodi.

DAFTAR RUJUKAN

- Rahman I, Darmawati S, Kartika AI. Penentuan Golongan Darah Sistem Abo Dengan Serum Dan Reagen Anti-Sera Metode Slide. *Gaster*. 2019;17(1):77. doi:10.30787/gaster.v17i1.330
- Sree V, Karthik KS, CH A, P S, Pradeep DMS, Patnaik K. Determination and Classification of Blood Types using Image Processing Techniques. *Int J Comput Appl*. 2021;55(1):12-16. doi:10.5120/ijca2017912592
- Hafez W, Ziade MA, Arya A, Saleh H, Abdelrahman A. The significance of antiglobulin (Coombs) test reactivity in patients with COVID-19. *Immunobiology*. 2022;227(4):152240. doi:10.1016/j.imbio.2022.152240
- Van Buren NL. *Perinatal Transfusion Medicine*. Third Edit. Elsevier Inc.; 2019. doi:10.1016/b978-0-12-813726-0.00050-7
- Leonard A, Hittson Boal L, Pary P, et al. Identification of red blood cell antibodies in maternal breast milk implicated in prolonged hemolytic disease of the fetus and newborn. *Transfusion*. 2019;59(4):1183-1189. doi:10.1111/trf.15154
- Cabanillas-Bernal O, Cervantes-Luevano K, Flores-Acosta GI, Bernáldez-Sarabia J, Licea-Navarro AF. COVID-19 Neutralizing Antibodies in Breast Milk of Mothers Vaccinated with Three Different Vaccines in Mexico. *Vaccines*. 2022;10(4). doi:10.3390/vaccines10040629
- Mandasari AA, Nisa IC. STUDI KOMPARATIF FRAKSI AIR SUSU IBU PERAH SEGAR DAN BEKU DALAM MENGHAMBAT BAKTERI Enterotoksigenik Escherichia coli Comparative Study of Fresh and Frozen Human Breast Milk against the Growth of Enterotoxigenic Escherichia coli. 2019;7(3):1-8.
- Kumar S, Rasalam JE, David VT, et al. Breast milk contains red cell isohaemagglutinins: An observational study of 176 mothers. *Vox Sang*. 2022;117(6):847-852. doi:10.1111/vox.13253
- Ratmawati L.A. Pengaruh Lama Penyimpanan ASI pada Suhu Ruangan terhadap Kadar Protein ASI. *Rev Bras Ergon*. 2016;2(01):1-4. <https://www.infodesign.org.br/infodesign/article/view/355%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/731%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/269%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/106>
- Yundelfa M, Mayetti M, Lipoeto NI. Effect of Duration and Temperatur Breastmilk Storage and The way of Diluting Breastmilk on Protein and Fat Levels in Breastmilk. *J Midwifery*. 2018;3(1):72. doi:10.25077/jom.1.1.72-83.2018
- Oktari A, Silvia ND. Pemeriksaan Golongan Darah Sistem ABO Metode Slide dengan Reagen Serum Golongan Darah A , B , O. *J Teknol Lab*. 2016;5(2):49-54.
- Albrecht M, Arck PC. Vertically Transferred Immunity in Neonates: Mothers, Mechanisms and Mediators. *Front Immunol*. 2020;11(March):1-14. doi:10.3389/fimmu.2020.00555
- Vidianti LW. Kadar Protein Pada ASI (Air Susu Ibu) Dengan Variasi Waktu Penyimpanan Di Suhu Freezer (-15). Published online 2018.
- Meinapuri M, Putri BO. ARTIKEL PENELITIAN Hubungan kadar imunoglobulin a sekretori air susu ibu dengan berat badan bayi yang mendapat air susu ibu eksklusif. 2018;41(1):1-9. doi:10.22338/mka.v41.i1.p1-9.2018
- Acharya V V., Chaudhuri P.



Modalities of Protein Denaturation and Nature of Denaturants. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2021;69(2):19-24.
doi:10.47583/ijpsrr.2021.v69i02.002