

Kandungan laktoferin dalam susu ibu dan kaitan dengan pengambilan kalori, protein dan ferum

(Lactoferrin content of breast milk and its association with maternal calorie, protein and iron intake)

Maznah Ismail & Rodziah Abd Razak

Department of Nutrition and Community Health, Faculty of Human Ecology, Universiti Pertanian Malaysia, 43400 UPM, Serdang, Selangor.

ABSTRAK

Kajian ini bertujuan untuk menentukan kandungan laktoferin dalam susu ibu dan menguji perkaitannya dengan pengambilan kalori, protein dan ferum dalam diet ibu. Kajian telah dilakukan ke atas 35 orang ibu yang baru melahirkan sehingga hari ke-30 kelahiran di kawasan Serdang. Sampel susu ibu dipungut sebanyak tiga kali iaitu pada peringkat kolostrum (hari ke-2), transisi (hari ke-7) dan matang (hari ke-30). Maklumat kajian diperolehi melalui penggunaan borang soal selidik yang mengandungi maklumat latar belakang subjek, Ingatan Diet 24 Jam dan Keperluan Pengambilan Makanan. Maklumat Ingatan Diet 24 Jam dianalisis menggunakan DEMETER bagi menentukan pengambilan kalori, protein dan ferum ibu-ibu. Teknik ELISA sandwich tak bersaing telah digunakan untuk menentukan kandungan laktoferin dalam susu ibu. Hasil analisis yang dijalankan mendapati bahawa kandungan laktoferin menurun mengikut tempoh penyusuan dengan min laktoferin di dalam kolostrum sebanyak 7.0 ± 0.3 mg/ml (6.2 - 7.6 mg/ml), susu transisi sebanyak 3.5 ± 0.2 mg/ml (2.6-4.1 mg/ml) dan susu matang sebanyak 1.5 ± 0.2 mg/ml (1.2-1.9 mg/ml). Data pengambilan diet subjek kajian menunjukkan bahawa purata pengambilan nutrien ibu-ibu pada hari ke-30 meningkat berbanding hari ke-7. Purata pengambilan kalori pada hari ke-7 ialah sebanyak 2540 ± 325 kcal dan meningkat kepada 2698 ± 364 kcal pada hari ke-30 sementara bagi protein pula sebanyak 65.0 ± 26.8 g pada hari ke-7 dan meningkat kepada 74.9 ± 32.1 g pada hari ke-30. Demikian juga bagi ferum, pada hari ke-7 didapati pengambilan sebanyak 11.5 ± 6.9 mg dan pada hari ke-30, ia meningkat kepada 14.4 ± 8.9 mg. Pekali Korelasi Pearson menunjukkan bahawa tiada perkaitan yang signifikan di antara pengambilan kalori, protein dan ferum dengan kandungan laktoferin pada $p < 0.05$ ($r = 0.1258, 0.0878, 0.2056$). Kajian ini mendapati bahawa kandungan laktoferin menurun sepanjang tempoh penyusuan, paling tinggi pada peringkat kolostrum dan aras laktoferin tidak dipengaruhi oleh pengambilan kalori, protein dan ferum ibu.

ABSTRACT

This research was undertaken to study the lactoferrin content of breast milk and its correlation to maternal calorie, protein and iron intake. The study was conducted in Serdang area and it involved 35 mothers from day one to day 30 postnatal. Milk samples were collected at three different stages; colostrum (day 2), transitional milk (day 7) and mature milk (day 30). Background and dietary data were collected through questionnaire which provided information

on the subjects background, 24-hour diet recall and food frequency. Results from 24-hour dietary recall were analyzed using a nutritional programme, DEMETER to determine the calorie, protein and iron intake of these mothers. The concentration of lactoferrin in milk samples was analyzed using an indirect sandwich technique. Analysis showed a decrease in lactoferrin concentration during the lactation period. Lactoferrin concentration in colostrum, transitional and mature milk was 7.0 ± 0.3 mg/ml (6.2-7.6 mg/ml), 3.5 ± 0.2 mg/ml (2.6-4.1 mg/ml) and 1.5 ± 0.2 mg/ml (1.2-1.9 mg/ml) respectively. With regards to the dietary intake, the results showed that the average nutrient intake on the 30th day was higher compared to an average intake on the 7th day. Average calorie intake on day 7 was 2540 ± 325 kcal and it increased to 2698 ± 364 kcal on day 30, while the average protein intake on day 7 was 65.0 ± 26.8 g which increased to 74.9 ± 32.1 g on the 30th day. The average iron intake also increased from 11.56.9 mg on day 7 to 14.4 ± 8.9 mg on day 30. Pearson Correlation Coefficient showed no significant correlation between maternal calorie, protein and iron and the concentration of lactoferrin at $p < 0.05$ ($r=0.1258, 0.0878, 0.2056$). This data suggests that lactoferrin concentration decreases during the feeding period being highest at the colostrum stage and the level is not affected significantly by the maternal intakes of calorie, protein and iron.

PENGENALAN

Kebaikan penyusuan ibu sebagai kaedah utama pemakanan bayi telah diketahui umum melalui pelbagai kempen dan seminar di peringkat nasional, namun kadar penyusuan ibu secara eksklusif didapati masih berada di tahap yang kurang memuaskan. Kadar penyusuan ibu di Malaysia didapati telah menurun daripada 92 % (1950an) kepada 78 % (1970an) tetapi kemudian ia meningkat semula pada awal tahun 1975 (DaVanzo, 1991). Walau bagaimanapun beliau mendapati bahawa peningkatan yang berlaku adalah kurang daripada 10 %. Menurut Yadav (1984) penurunan kadar.

Susu ibu adalah penting untuk proses tumbesaran yang pesat dan keperluan imunologi bayi. Eiger dan Olds (1981) mendapati bahawa susu ibu mengandungi zat-zat makanan yang cukup dan lengkap untuk tumbesaran dan perkembangan bayi pada peringkat empat hingga enam bulan dan ianya akan menyebabkan bayi membesar sehingga tiga kali ganda daripada masa lahir apabila mencapai umur setahun. Bayi yang menyusu dengan susu ibu jarang mendapat diarea dan kurang mengalami masalah saluran pernafasan dan infeksi berbanding bayi yang menyusu dengan susu formula. Bayi yang terus menerima susu ibu semasa mendapat infeksi didapati sembuh lebih cepat daripada bayi yang diberhentikan penyusuan ibu (King, 1992). Selain daripada itu, penyusuan ibu melindungi daripada penyakit dan membantu dalam penyembuhan sehingga tahun kedua dan ketiga kehidupannya (King, 1992).

Di antara komponen yang menyumbang kepada sifat anti bakteria dalam susu ibu ialah imunoglobulin IgA, IgG dan IgM serta laktoferin (Mata dan Wyatt, 1971). Laktoferin merupakan protein fasa akut yang berperanan dalam proses anti infeksi (Baynes *et al.*, 1986). Ia merupakan sejenis protein pengikat ferum di dalam kumpulan yang sama seperti serum transferin (Kretchmer, 1993). Walaupun mempunyai struktur molekul yang hampir homologus dengan serum transferin kajian *in vitro* mendapati laktoferin tidak berfungsi sebagai pengangkut ferum ke dalam sel-sel seperti monosit dan makrofaj seperti transferin walaupun ia didapati berupaya

untuk merangsang proliferasi sel-sel tersebut (Maznah dan Brock, 1993). Chung (1993) mendapati bahawa paras tertinggi kandungan laktoferin pada manusia didapati dalam kolostrum (kira-kira 7 g/l) dan susu matang kira-kira 1 g/l. Chung (1993) menyatakan bahawa laktoferin mempunyai sifat anti bakteria, anti kulat dan anti virus. Peranan istimewanya ialah dari segi keupayaannya mengikat ferum dan memelihara kepekatan ferum di bawah paras yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteria (Chung, 1993).

Walaupun kepekatan ferum di dalam susu ibu adalah rendah (0.4 mg/l) berbanding dengan susu formula (7-12 mg/l), Lonnerdal *et al.*, (1985), tetapi bayi yang menyusu dengan susu ibu jarang mendapat anaemia disebabkan oleh bioavailabiliti ferum yang tinggi dalam susu ibu (Lonnerdal, 1984). Laktoferin dalam susu ibu dijangka memainkan peranan penting dalam penyerapan ferum di dalam usus bayi dan telah diketahui bahawa ferum di dalam susu ibu diserap lebih tinggi daripada susu formula (Saarinen, 1977). Kajian *in vitro* dengan menggunakan sel karsinoma kolon, Caco-2 yang berupaya untuk membentuk enterosit apabila dikultur dalam bicameral chamber mendapati bahawa laktoferin dan bukan transferin berupaya untuk merangsang pengangkutan ferum ke dalam sel-sel mukosa (Sanchez *et al.*, 1996). Selain daripada itu, ia memainkan peranan penting sebagai mekanisme pertahanan yang melawan infeksi pada saluran gastrousus melalui perencatan pertumbuhan organisma.

Laktoferin amat penting untuk kehidupan awal bayi kerana sistem gastrousus bayi yang masih belum berkembang secara matang akan membenarkan sesetengah protein terutamanya laktoferin dan imunoglobulin untuk merentas membran sel mukosa dengan sedikit pencernaan. Keadaan ini amat penting untuk membolehkannya bertindak sebagai mekanisme pertahanan yang mengawal daripada infeksi. Sejajar dengan kepentingan laktoferin dalam susu ibu, maka kajian ini direkabentuk untuk menentukan kandungan laktoferin dalam susu ibu semasa bulan pertama kelahiran dan menguji perkaitannya dengan pengambilan kalori, protein dan ferum dalam diet ibu.

METODOLOGI

Pemilihan subjek

Pemilihan subjek dibuat secara bertujuan dengan berpandukan kepada maklumat yang diberikan oleh Pusat Kesihatan Seri Kembangan, Serdang, Selangor. Pada awal kajian, seramai 48 orang ibu telah dipilih daripada senarai nama ibu yang mengandung pada trimester akhir antara bulan Julai-September 1995. Antara subjek yang dipilih hanya 35 orang sahaja yang memenuhi kriteria kajian ini iaitu berada di kawasan Serdang sepanjang tempoh pungumpulan sampel susu diadakan. Kunjungan ke rumah subjek telah dilakukan bagi mendapatkan persetujuan secara bertulis daripada mereka untuk terlibat dalam kajian ini. Subjek juga diberi penerangan mengenai kajian terutama cara mengumpul sampel susu.

Latar belakang subjek

Satu set borang soalselidik telah dibentuk untuk mengumpul maklumat peribadi subjek seperti nama, umur, tarikh bersalin, pariti kelahiran dan jarak dengan kelahiran sebelumnya. Subjek juga

ditanya berkenaan dengan pengambilan suplemen tertentu seperti ferum dan vitamin C semasa mengandung dan selepas bersalin, pengambilan jamu dan jenis penyusuan yang diamalkan oleh subjek sama ada penyusuan eksklusif atau penyusuan separa. Penyusuan eksklusif merujuk kepada ibu-ibu yang menyusukan bayi mereka sepenuhnya sementara penyusuan separa melibatkan pemberian susu formula sebagai tambahan kepada susu ibu.

Ingatan Diet 24 Jam

Maklumat berkenaan pengambilan yang lepas dilakukan sebanyak dua kali bagi mendapatkan pengambilan harian kalori, protein, ferum dan vitamin C. Maklumat ini diperolehi semasa pungutan sampel susu dilakukan iaitu pada hari ketujuh dan hari ketiga puluh kelahiran. Maklumat yang diperolehi daripada Ingatan Diet 24 Jam ini dianalisis menggunakan program DEMETER yang berasaskan data komposisi makanan Malaysia (Tee *et al.*, 1988) bagi menentukan pengambilan semasa kalori, protein dan ferum oleh subjek.

Kekerapan Pengambilan Makanan

Pola pengambilan makanan oleh subjek direkodkan bagi mengukur pengambilan biasa individu. Makanan yang kaya dengan protein, ferum dan vitamin C disenaraikan dalam bahagian ini. Maklumat kekerapan pengambilan setiap item makanan direkodkan dengan menggunakan kod seperti berikut:

- 1- setiap hari
- 2- selang sehari
- 3- sekali seminggu
- 4- 2-3 kali sebulan
- 5- sekali sebulan
- 6- jarang
- 7- tidak pernah

Pengumpulan sampel susu

Tiga tiub spesimen yang telah dilabelkan dengan hari pengumpulan susu diedarkan kepada subjek bagi memudahkan pengumpulan sampel susu dilakukan sendiri oleh mereka. Subjek diberi penerangan mengenai cara memerah dan memasukkan susu ke dalam tiub spesimen bagi mengurangkan kemungkinan ia dicemari oleh bakteria mengikut prosedur yang disarankan oleh WHO (1985). Selain daripada penerangan, subjek juga diberi garis panduan secara bertulis untuk membantu mengingatkan mereka mengenai prosedur dan tarikh pengumpulan susu yang patut dilakukan. Sampel susu dikutip sebanyak tiga kali iaitu pada hari ke-2 (kolostrum), hari ke-7 (transisi) dan hari ke-30 (susu matang) dengan merujuk kepada pengelasan oleh Shaikh Alaudeen *et al.* (1988). Susu ibu diperah oleh subjek secara manual sebanyak lebih kurang 15 ml di antara waktu bangun tidur hingga jam 11.00 pagi dan disimpan serta merta pada -4°C mengikut prosedur yang telah ditetapkan. Sampel susu dikutip dan dibawa ke makmal menggunakan ais kering serta disimpan pada -20°C sehingga ujian dijalankan.

Asai ELISA

Bahan

Rabbit antihuman lactoferrin antibody dan antihuman lactoferrin horse radish peroxidase telah diperolehi daripada Serotec Ltd., Kidlington, Oxford, U.K. Laktoferin piawai manusia, serum albumin manusia (HSA), mioglobin (sumber daripada otot rangka kuda), phosphate buffered saline (PBS) dan bahan kimia lain untuk larutan penimbal telah diperolehi daripada Sigma Chemical Company Ltd., Poole, Dorset, U.K. Piring mikrotiter ELISA 96-telaga telah dibekalkan oleh InterMed, Roskilde, Denmark.

Larutan

Semua larutan telah disediakan dengan menggunakan PBS (pH 7.4). Larutan antibodi laktoferin: 5 µl dalam 10 ml PBS; Larutan enzim-konjugat anti-laktoferin: 5 µl dalam 10 ml PBS; mioglobin 20 g/l; larutan penimbal fosfat 100 mmol/L, 200 mmol/L, pH 7.2. Penimbal fosfat/sitrat: 24 mmol/L asid sitrik dan 51 mmol/L dinatnum hidrogen fosfat, pH 5.5. Larutan σ-fenilindiamin: 30 mg dalam 10 ml penimbal fosfat/sitrat kemudian ditambah dengan 30 µl hidrogen peroksida (30%) sebelum digunakan.

Pengoptimaan Asai ELISA

Satu siri percubaan dengan pencairan antibodi yang berbeza telah dilakukan untuk prosedur pelekatan pada fasa pepejal dan didapati kapasiti pengikatan maksimum adalah pada kepekatan 5 µg/ml. Bagi enzim konjugat pula satu siri pencairan telah dilakukan bagi mendapat nilai A492 maksimum ke tahap 1.2 bagi kepekatan tertinggi larutan piawal iaitu dengan pencairan 1:2000 daripada larutan stok yang bersamaan dengan 150 ng peroksidase berlabel IgG. Pencairan yang kurang daripada nisbah ini didapati tidak menambah sensitiviti tetapi meninggikan nilai A492 bagi kawalan. Beberapa bahan penyekat pada kepekatan yang berbeza telah diuji termasuk BSA (1%, 2%), serum arnab (10%) dan mioglobin (1%, 2%). Mioglobin telah dipilih sebagai bahan penyekat kerana menghasilkan nilai A492 bagi kawalan yang paling minimum yang membenarkan kepekatan minimum laktoferin yang boleh dikesan pada 0.05 µg/ml.

Prosedur Asai

Kepekatan laktoferin dalam susu ibu telah ditentukan dengan kaedah ELISA oleh Figarella (1986) dengan pengubahsuaian oleh (Maznah, 1993) dengan menggunakan piring mikrotiter 96-telaga sebagai fasa pepejal dan bukan bebola polistairin. Larutan antibodi laktoferin (200 µl) dijerap pada dasar piring mikrotiter dan dieram pada suhu bilik selama 1 jam. Selepas pengeraman, lebihan antibodi yang tidak terikat dibuang dan dibasuh sebanyak 5 kali dengan air suling steril dan nyah ion. Ini diikuti dengan penambahan mioglobin 2 % (200µl) sebagai bahan pengikat ke dalam setiap dasar telaga piring mikrotiter dan dieram pada suhu bilik selama 1 jam, kemudian lebihan mioglobin dituang dan dibasuh. Setelah itu penambahan laktoferin piawai atau sampel susu sebanyak 200 µl pada setiap telaga mikrotiter dilakukan dan dieram semula pada suhu bilik selama 2 jam. Setiap sampel susu disediakan secara duplikat. Kemudian ia dituang dan dibasuh lagi seperti langkah sebelumnya. 200 µl konjugat enzim antibodi dimasukkan ke dalam

setiap dasar telaga dan dieram pada suhu bilik selama 2 jam. Kemudian ia dibasuh lagi dan ini diikuti dengan penambahan substrat enzim sebanyak 200 µl ke setiap telaga piring mikrotiter dan dieram dalam keadaan gelap selama 30 minit. Akhir sekali penambahan asid hidroklorik pekat 1M sebanyak 50 µl dilakukan pada setiap dasar telaga piring mikrotiter untuk menghentikan tindakbalas. Nilai absorbans kemudiannya dibaca pada jarak gelombang 492 nm dengan menggunakan pembaca ELISA. Kepekatan laktoferin dalam sampel susu dibaca daripada lengkung piawai.

Penentuan

Larutan piawai disediakan daripada larutan stok laktoferin (50 g/L) kepada beberapa siri pencairan daripada 0.5 µg/ml hingga 5.0 µg/ml dengan HSA.

Analisis Data

Data yang telah diperolehi dianalisis menggunakan SPSS for Windows. Taburan data seperti min, median dan sisihan piawai diperolehi melalui analisis frekuensi. Pekali Korelasi Pearson digunakan untuk menguji perkaitan di antara jumlah pengambilan kalori, protein dan ferum dengan kandungan laktoferin.

HASIL DAN PERBINCANGAN

Latar belakang subjek

Seramai 35 orang subjek yang terdiri daripada ibu-ibu berbangsa Melayu yang baru melahirkan hingga ke hari 30 kelahiran telah mengambil bahagian dalam kajian ini. Subjek kajian merupakan ibu-ibu yang sihat, tidak mengalami masalah kesihatan semasa mengandung, melahirkan bayi secara normal dan cukup tempoh matang. Bayi yang dilahirkan juga sihat, tidak berpenyakit dan tidak menghadapi masalah kekurangan berat badan. Semua subjek kajian melahirkan bayi mereka di hospital. Enam puluh peratus daripada mereka merupakan ibu-ibu yang bekerja sementara 40% lagi adalah surirumah sepenuh masa. Subjek yang dikaji berusia di antara 21-42 tahun dengan min umur 30.0 ± 5.5 tahun.

Pariti ibu ialah di antara pariti pertama hingga pariti kelapan dengan purata 3.0 ± 1.7 . Hanya 14.3% ibu melahirkan anak yang pertama sementara majoriti daripada mereka (34.3%) melahirkan anak kedua. Faktor ini berkaitan dengan usia subjek kajian yang majoritinya masih muda. Purata jarak kelahiran di antara kelahiran baru dengan kelahiran sebelum-nya ialah 39.4 ± 3.9 bulan. Ini menunjukkan bahawa majoriti ibu (70%) melahirkan bayi dengan jarak yang kurang daripada empat tahun.

Seramai 29 orang subjek (82.9%) menyatakan bahawa mereka mengambil jamu semasa tempoh kajian sementara 6 subjek lagi (17.1%) tidak mengamalkan sebarang pengambilan jamu. Data ini menunjukkan bahawa pengambilan jamu masih lagi menjadi amalan di kalangan ibu yang melahirkan. Mereka berpendapat bahawa pengambilan jamu adalah baik untuk memulihkan semula kesihatan selepas melahirkan di samping untuk memanaskan badan. Kajian oleh Institut

Penyelidikan Perubatan (Chong *et al*, 1984) mendapati bahawa jamu diamalkan oleh ibu-ibu selepas bersalin untuk tujuan memanaskan badan, memulihkan kesihatan dan untuk menambah pengeluaran susu. Majoriti daripada subjek yang dikaji memulakan pengambilan jamu selepas seminggu melahirkan kerana bimbang akan menjejaskan kesihatan bayi. Jamu berbentuk rempah ratus lebih popular diamalkan oleh ibu-ibu (41%) berbanding bentuk pil/kapsul (28%) dan akar kayu (31%).

Dari segi jenis penyusuan yang diamalkan semasa tempoh kajian, didapati bahawa 29 orang responden (82.9%) mengamalkan penyusuan eksklusif dan 6 subjek lagi (17.1%) mengamalkan penyusuan separa iaitu dengan memberi susu formula sebagai tambahan kepada susu ibu. Peratus penyusuan eksklusif yang tinggi ini menyokong kajian lalu oleh Wan Abd Manan (1995) yang menyatakan bahawa kadar penyusuan ibu adalah tinggi pada 3 bulan pertama selepas kelahiran. Didapati bahawa ibu-ibu memberi tambahan susu formula kepada bayi dengan alasan bekerja. Oleh itu mereka ingin membiasakan bayi mereka menerima susu formula supaya mudah ditinggalkan kepada pengasuh apabila keluar bekerja. Di samping itu, mereka juga menyatakan jumlah susu yang dikeluarkan tidak mencukupi kerana bayi sering menangis walaupun selepas disusukan.

Pengambilan Nutrien

Maklumat yang telah dianalisis melalui kaedah Ingatan Diet 24 jam menunjukkan bahawa purata pengambilan bagi kalori selepas melahirkan pada hari ke-7 ialah sebanyak 2540 ± 325 kcal berbanding pada hari ke-30 yang meningkat kepada 2698 ± 364 kcal. Sementara purata pengambilan protein pada hari ke-7 ialah sebanyak 65.0 ± 26.8 g berbanding hari ke-30 yang meningkat kepada 74.9 ± 32.1 g. Bagi pengambilan ferum pada hari ke-7 didapati sebanyak 11.5 ± 6.9 mg dan meningkat kepada 14.4 ± 8.9 mg pada hari ke-30. Bagi vitamin C pula, min pengambilan adalah sebanyak 29.7 ± 2.5 mg pada hari ke-7 dan pada hari ke-30 ia meningkat kepada 43.2 ± 4.2 mg (Jadual 1). Secara keseluruhannya, terdapat peningkatan dari segi pengambilan nutrien pada hari ke-30 berbanding hari ke-7. Menurut Siti Hasmah (1979) pertambahan dari segi pengambilan ini disebabkan oleh meningkatnya keperluan susu oleh bayi yang menggalakkan ibu-ibu mengambil makanan yang lebih berbanding ketika baru melahirkan. Selain daripada itu, amalan pantang yang diamalkan di awal kelahiran juga menyebabkan pengambilan makanan yang berbeza semasa peringkat awal kelahiran berbanding jangkamasa selepasnya.

Jadual 1. Purata pengambilan nutrient oleh subjek kajian

Nutrien	Keperluan RDA	Pengambilan Nutrien	
		Hari ke-7	Hari ke-30
Kalori (Kcal)	2550*	2540 ± 325	2698 ± 364
Protein (gm)	65	65.0 ± 26.8	74.9 ± 32.1
Ferum (mg)	28	11.5 ± 6.9	14.4 ± 8.9
Vitamin C (mg)	50	29.7 ± 2.5	43.2 ± 4.2

* Bagi wanita (20-39 tahun): 2000 kcal + 550 kcal untuk 6 bulan pertama penyusuan

Jadual 2 menunjukkan pengambilan pil suplemen iaitu ferum dan vitamin C yang diamalkan oleh subjek semasa mengandung dan selepas bersalin. Didapati bahawa 77.1% subjek mengambil pil tambahan ferum semasa mengandung dan 68.6% subjek mengambilnya selepas bersalin. Daripada jumlah ini, hanya 65.7% sahaja yang mengambilnya semasa mengandung dan selepas bersalin. Bagi vitamin C pula, 34.3% subjek mengambilnya semasa mengandung dan 31.4% mengambilnya selepas bersalin. Hanya 28.6% sahaja yang mengambilnya semasa mengandung dan selepas bersalin. Sementara itu didapati bahawa hanya 20% subjek yang tidak mengambil pil suplemen ferum berbanding 62.9% lagi yang tidak mengambil pil suplemen vitamin C semasa mengandung dan selepas bersalin. Walaupun peratus yang mengamalkan pengambilan pil suplemen ini adalah kurang terutamanya bagi vitamin C, namun menurut Monsen *et al* (1978) keperluan ferum dan vitamin C boleh diperolehi dengan mudah daripada kebanyakan sumber makanan yang ada. Oleh itu, pengambilan pil suplemen adalah tidak perlu bagi individu yang mendapat keperluan yang mencukupi daripada diet. Tambahan pula menurut beliau lagi dos yang tinggi pada pil suplemen ferum akan menyebabkan kesan toksik sekiranya diambil berlebihan.

Jadual 2. Pengambilan pil suplemen

Pil Suplemen	Mengandung		Menyusu		M'andung & Menyusu	
	Ya n (%)	Tidak n (%)	Ya n (%)	Tidak n (%)	Ya n (%)	Tidak n (%)
Ferum	27 (77.2)	8 (22.9)	24 (68.6)	11 (31.4)	23 (65.7)	7 (20.0)
Vitamin C	12 (34.3)	23 (65.7)	11 (31.4)	24 (68.6)	10 (28.6)	22 (62.9)

Pengambilan bagi kalori telah mencapai keperluan yang disyorkan oleh RDA dengan peratus pencapaian bagi hari ke-7 sebanyak 99.6% dan meningkat kepada 105.8% pada hari ke-30 kelahiran. Didapati bahawa sumber utama kalori diperolehi daripada makanan yang tinggi kandungan karbohidrat iaitu nasi dan roti putih. Bagi protein pula, pengambilannya juga mencukupi seperti yang disyorkan oleh RDA dengan peratus pencapaian sebanyak 100% pada hari ke-7 dan meningkat kepada 115% pada hari ke-30. Sumber utama protein didapati daripada ikan basah, ikan bilis, kekacang dan nasi. Nasi didapati membekalkan kandungan protein yang tinggi kerana diambil dalam kuantiti yang banyak. Data daripada kekerapan makanan (Jadual 3) menunjukkan bahawa 82.9% subjek yang dikaji mengambil ikan basah setiap hari dan hanya 17.1% yang mengambilnya selang sehari. Sementara itu bagi ikan bilis, seramai 54.3% subjek mengambilnya setiap hari. Lapan puluh peratus subjek mengambil susu setiap hari dan 60% daripada jumlah ini mengambil susu tepung dan selebihnya mengambil susu pekat manis. Bagi kategori telur pula, didapati bahawa seramai 48.6% subjek mengambil telur setiap hari sementara 37.1% lagi mengambilnya selang sehari. Daging dan ayam pula hanya diambil seminggu sekali sahaja oleh majoriti subjek yang dikaji. Data yang diperolehi menunjukkan bahawa secara keseluruhannya majoriti subjek yang dikaji mengambil makanan yang kaya dengan protein hampir setiap hari.

Sementara itu data Ingatan Diet 24 jam menunjukkan bahawa pengambilan ferum agak rendah dan hanya memenuhi 41.4% pada hari ke-7 dan ia meningkat sedikit kepada 51.6% pada hari ke-30 tetapi masih belum memenuhi keperluan yang disyorkan oleh RDA. Data ini tidak mengambil kira pil suplemen memandangkan kebanyakan subjek didapati tidak mengambilnya pada

Kandungan laktoferin dalam susu ibu

jangkamasa kajian. Organ dalaman seperti hati, limpa, paru dan jantung yang dikenalpasti mengandungi sumber ferum yang tinggi juga turut disenaraikan tetapi pengambilannya amat jarang di kalangan subjek. Walaupun demikian, didapati lebih 65% subjek yang dikaji mengambil pil tambahan ferum semasa mengandung dan selepas melahirkan. Didapati bahawa purata pengambilan ferum berbentuk heme hanya sebanyak 2.0 ± 0.2 mg sahaja. Ini menunjukkan bahawa pengambilan sumber ferum daripada sumber haiwan adalah rendah, iaitu hanya 15.4% sahaja berbanding dengan sumber bukan heme yang didapati daripada punca makanan lain. Ini mungkin disebabkan oleh amalan pantang tertentu yang menyebabkan pengambilan makanan daripada sumber haiwan adalah rendah. Kajian ini mendapati bahawa sumber utama ferum berbentuk heme adalah daripada ikan basah, ikan bilis dan ayam. Jenis ikan basah yang kerap diambil oleh subjek ialah ikan merah, ikan selar dan tenggiri kerana dianggap bahawa ikan-ikan jenis ini tidak menyebabkan gatal jika dimakan.

Jadual 3. Peratus kekerapan pengambilan makanan (n = 35)

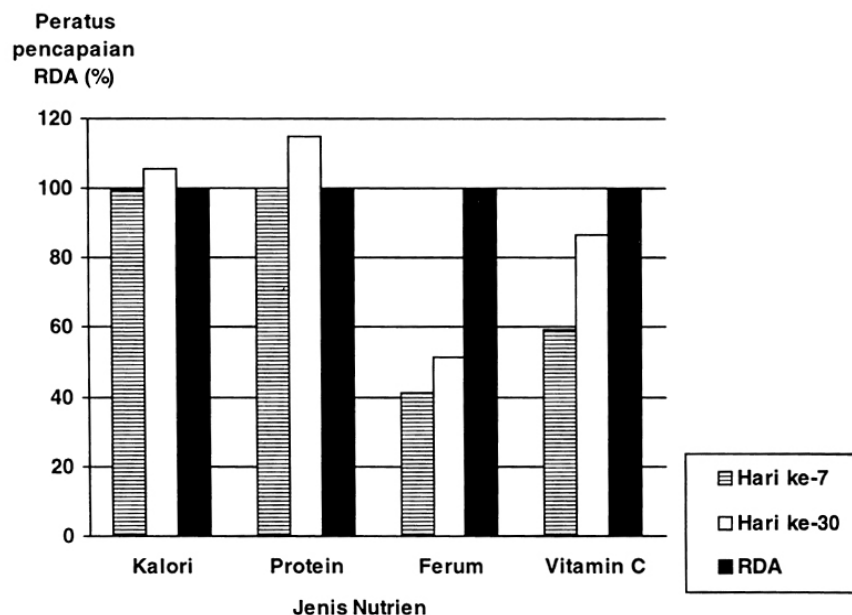
	Kekerapan						
	1	2	3	4	5	6	7
1. Sumber kaya protein							
a) Ikan dan karangan laut							
- ikan basah	82.9	17.1	0	0	0	0	0
- ikan bilis	54.3	20.0	17.1	0	5.7	2.9	0
- udang	0	11.4	40.0	5.7	20.0	20.0	2.9
- lain-lain (ketam, sotong, kerang, sardine)	0	5.7	16.4	11.4	32.9	25.7	7.8
b) Susu	80.0	14.2	5.8	0	0	0	0
c) Telur	48.6	37.1	8.6	2.9	2.9	0	0
d) Daging dan ayam							
- daging	2.9	11.4	51.4	8.6	11.4	5.7	8.6
- ayam	5.7	17.1	74.3	0	0	2.9	0
e) Kekacang	5.7	34.2	17.1	5.7	5.7	11.6	0
2. Sayur-sayuran	5.8	25.7	65.6	2.9	0	0	0
3. Buah-buahan	31.5	48.7	19.8	0	0	0	
4. Minuman							
- teh/kopi	31.4	8.5	22.9	2.9	5.7	28.6	0
- minuman bermalt	77.1	11.4	8.6	0	2.9	0	0

Kod kekerapan:

- | | |
|----------------------|--------------------|
| 1 - tiap-tiap hari | 5 - sekali sebulan |
| 2 - selang sehari | 6 - jarang |
| 3 - sekali seminggu | 7 - tidak pernah |
| 4 - 2-3 kali sebulan | |

Bagi pengambilan vitamin C pula, didapati bahawa ia hanya memenuhi 59.4% daripada kuantiti yang disarankan oleh RDA pada hari ke-7 dan meningkat sehingga 86.5% pada hari ke-30 kelahiran. Subjek didapati kurang mengambil buah-buahan dan sayur-sayuran yang kaya dengan vitamin C pada minggu pertama kelahiran kerana bimbang akan menyebabkan sejuk dan masalah kepada bayi seperti kembung perut dan sebagainya. Jenis sayur-sayuran yang kerap diambil oleh subjek ialah sawi, kacang buncis, kobis dan lobak. Menurut mereka sayur-sayuran ini tidak sejuk atau berangin sementara pengambilan lobak diamalkan untuk menambah

pengeluaran air susu. Data kekerapan pengambilan makanan menunjukkan bahawa walaupun subjek yang dikaji mengambil sayur-sayuran setiap hari tetapi didapati bahawa pengambilan item yang disenaraikan adalah rendah iaitu hanya 5.8% sahaja yang mengambilnya setiap sementara 65.6% daripada mereka mengambilnya sekali seminggu. Secara keseluruhannya, separuh subjek mengambil buah-buahan yang kaya dengan vitamin C selang sehari dan sepertiga lagi mengambilnya setiap hari. Pengambilan vitamin C yang tinggi adalah baik bagi menggalakkan penyerapan ferum. Siti Hasmah (1979) menyatakan bahawa ibu-ibu yang kurang mengambil buah-buahan dan sayur-sayuran mempercayai bahawa bahan makanan ini tidak boleh dimakan kerana dipercayai sejuk dan boleh melemahkan badan. Kuantiti air yang diminum juga dihadkan supaya tidak menyebabkan pengeluaran darah yang berlebihan. Selain daripada itu, bahan-bahan yang membina badan seperti udang, ayam, daging dan beberapa jenis ikan yang dipercayai berbisa juga tidak dibenarkan. Begitu juga dengan makanan yang dipercayai mendatangkan angin seperti keledak, nangka dan terung juga turut dielakkan. Bagi kategori minuman pula, 31.4% subjek mengambil teh atau kopi setiap hari sementara 77.1% subjek lagi mengambil minuman bermalt setiap hari. Minuman seperti teh mengandungi asid tanik dan kopi pula mengandungi kafein yang menghalang penyerapan ferum (Disler *et al.*, 1975). Sementara minuman bermalt pula diperkaya dengan vitamin C yang tinggi dan boleh membantu dalam penyerapan ferum. Gambarajah 1 menunjukkan peratus pengambilan nutrien oleh subjek mengikut keperluan yang disyorkan oleh *Recommended Dietary Allowances/RDA* (Teoh, 1975).



Gambarajah 1. Peratus pengambilan nutrient menurut pencapaian RDA

Hasil kajian mendapati bahawa walaupun secara puratanya pengambilan kalori mencapai keperluan yang disarankan oleh RDA, namun hanya 19 subjek (54.3%) sahaja yang mengambil melebihi keperluan yang disyorkan pada hari ke-7 dan 65.7% subjek pada hari ke-30. Demikian juga bagi pengambilan protein, walaupun min pengambilan oleh subjek memenuhi kuantiti yang disarankan oleh RDA tetapi didapati bahawa hanya 17 subjek (48.6%) yang mencapai keperluan yang disyorkan pada hari ke-7 sementara pada hari ke-30 ia meningkat kepada 20 subjek

Kandungan laktoferin dalam susu ibu

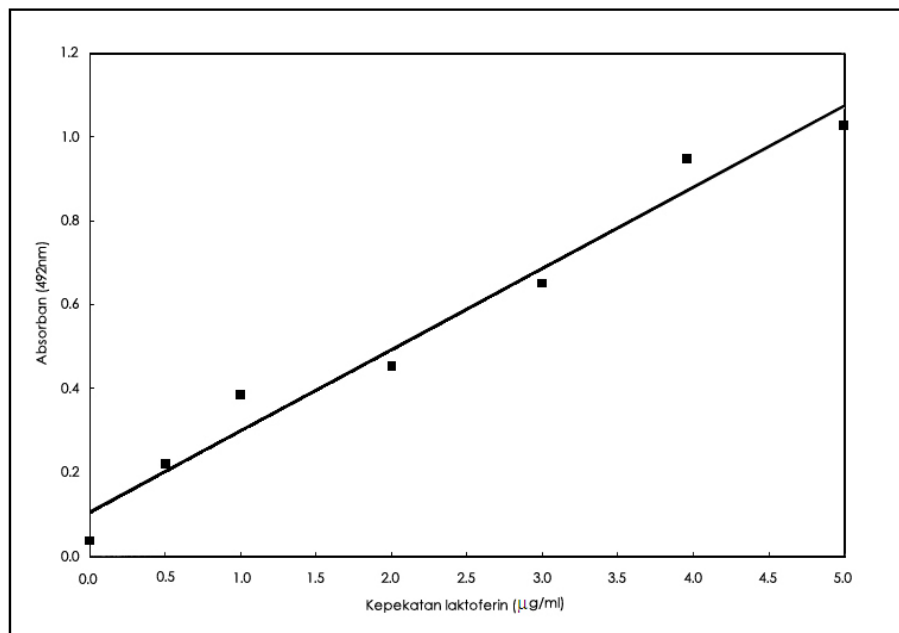
(57.1%). Bagi keperluan ferum pula hanya seorang subjek (2.8%) yang memenuhi keperluan RDA pada hari ke-7 dan ia meningkat kepada 4 subjek sahaja (11.4%) pada hari ke-30. Jelas didapati bahawa pengambilan ferum amat rendah pada majoriti subjek kajian. Sementara itu, peratus subjek yang mencapai keperluan yang disyorkan oleh RDA bagi vitamin C juga agak rendah iaitu 7 subjek (20%) pada hari ke-7 dan 10 subjek (28.6%) pada hari ke-30. Data yang diperolehi menunjukkan dengan jelas peningkatan pengambilan nutrien pada hari ke-30 berbanding hari ke-7. Pola pengambilan yang agak berbeza ini mungkin berpunca daripada faktor amalan pemakanan semasa peringkat awal kelahiran.

Kandungan laktoferin dalam susu ibu

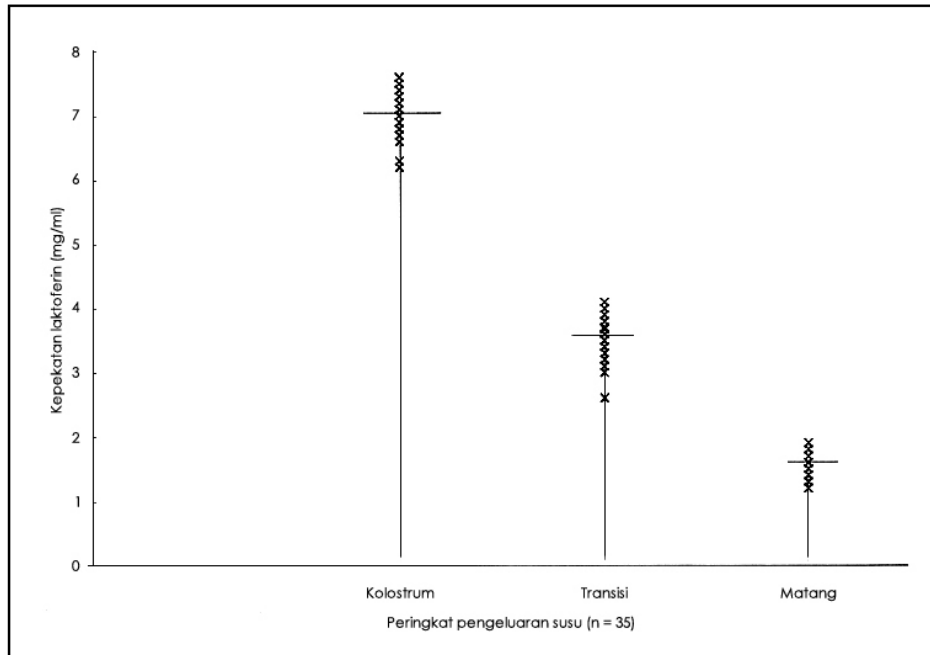
Julat lengkung piawai adalah di antara 0.5-5 $\mu\text{g/ml}$ (Gambarajah 2). Gambarajah 3 pula menunjukkan kepekatan laktoferin dalam susu ibu setelah dianalisis menggunakan teknik ELISA. Didapati bahawa kepekatan laktoferin dalam susu ibu pada peringkat kolostrum ialah di antara 6.2-7.6 $\mu\text{g/ml}$, susu transisi di antara 2.6-4.1 $\mu\text{g/ml}$ dan susu matang di antara 1.2-1.9 $\mu\text{g/ml}$. Secara puratanya, kandungan laktoferin semasa peringkat kolostrum adalah sebanyak 7.0 ± 0.2 mg/ml bagi susu transisi adalah 3.5 ± 0.2 mg/ml dan bagi susu matang sebanyak 1.5 ± 0.2 mg/ml (Jadual 4). Data ini bahawa kandungan laktoferin adalah tinggi pada peringkat kolostrum dan kuantitinya menurun sehingga ke peringkat susu matang.

Jadual 4. Purata kandungan laktoferin dalam susu ibu (mg/ml)

Peringkat	Min [LF] (mg/ml)
Kolostrum	7.0 ± 0.3
Transisi	3.5 ± 0.2
Matang	1.5 ± 0.2



Gambarajah 2. Graf piawai untuk kepekatan laktoferin



Gambarajah 3. Kandungan laktoferin dalam susu ibu

Hasil kajian ini menyokong data yang telah diperolehi oleh beberapa pengkaji lain sebelum ini. Kajian oleh Hennart *et al.* (1991) mendapati bahawa kepekatan laktoferin peringkat kolostrum adalah di antara 6.0-7.0 mg/ml. Pada akhir minggu pertama, beliau mendapati bahawa kepekatan laktoferin mulai menurun sehingga 1.6 mg/ml. Data dalam kajian ini menunjukkan bahawa terdapat perbezaan dengan hasil kajian beliau kerana didapati bahawa kepekatan laktoferin semasa minggu pertama penyusuan masih tinggi iaitu pada kadar 3.5 mg/ml. Pada peringkat susu matang pula, beliau mendapati bahawa kandungan laktoferin dalam susu ibu yang dikaji di Belgium dan Zaire ialah di antara 0.8-1.2 mg/ml sementara dalam kajian ini didapati kepekatan laktoferin secara puratanya ialah sebanyak 1.5 mg/ml. Kajian yang telah beliau lakukan adalah di kalangan ibu-ibu di luar bandar, manakala kajian ini telah dilakukan ke atas ibu-ibu di bandar yang mana status pemakanan mereka mungkin lebih tinggi dan ini disokong oleh kajian pengkaji tersebut yang mendapati bahawa terdapat perbezaan di antara aras laktoferin ibu-ibu luar bandar di Zaire dengan ibu-ibu di bandar di Belgium.

Perkaitan di antara pengambilan kalori, protein dan ferum dengan kandungan laktoferin

Pekali Korelasi Pearson telah digunakan untuk menguji perkaitan di antara pengambilan kalori, protein dan ferum dengan kandungan laktoferin dalam susu ibu. Didapati bahawa pengambilan kalori dan protein akan meningkatkan kandungan laktoferin dalam susu ibu, namun demikian perkaitan ini didapati tidak signifikan pada $p < 0.05$ dengan nilai $r = 0.1258$.

Kajian juga menunjukkan bahawa peningkatan pengambilan ferum turut meningkatkan kandungan laktoferin dalam susu ibu. Namun begitu ujian yang telah dijalankan menunjukkan bahawa perkaitan ini tidak signifikan pada $p < 0.05$ dengan nilai $r = 0.2056$. Menurut Prentice *et al.* (1989) kepekatan laktoferin adalah normal pada ibu yang mengalami kekurangan ferum tetapi rendah pada ibu yang secara umumnya mengalami kekurangan pemakanan. Houghton *et al.*

(1985) pula telah mencadangkan bahawa malnutrisi protein-tenaga lebih mempengaruhi sintesis laktoferin dalam kelenjar susu ibu berbanding ferum.

Perkaitan di antara pengambilan kalori, protein dan ferum dengan kandungan laktoferin yang tidak signifikan ini diperolehi mungkin disebabkan oleh ciri-ciri subjek yang homogenus iaitu berdasarkan pemilihan subjek dari lokasi yang sama dan kesemua subjek kajian ini tidak mengalami malnutrisi serta mengamalkan pengambilan diet yang hampir sama.

Secara keseluruhannya, hasil kajian ini mendapati bahawa tiada perkaitan yang signifikan wujud di antara pengambilan kalori, protein dan ferum dengan kandungan laktoferin dalam susu ibu. Hasil kajian yang terdahulu Prentice *et al.* (1984) dan Hennart *et al.* (1991) yang mendapati bahawa tiada perkaitan yang wujud di antara status pemakanan ibu dengan kandungan laktoferin dalam susu ibu.

KESIMPULAN

Kajian ke atas 35 orang ibu yang baru bersalin hingga hari ke-30 kelahiran yang dijalankan di kawasan Serdang mendapati bahawa kandungan laktoferin dalam susu ibu berubah dengan tempoh penyusuan. Kandungannya didapati menurun secara signifikan dengan meningkatnya tempoh penyusuan. Eksperimen yang dijalankan menunjukkan bahawa min kepekatan laktoferin dalam kolostrum paling tinggi berbanding dengan susu transisi dan susu matang. Data ini menyokong kajian lepas oleh beberapa orang pengkaji yang mendapati bahawa kandungan laktoferin menurun mengikut tempoh penyusuan. Ini menunjukkan bahawa kolostrum mengandungi kepekatan laktoferin yang tinggi yang tiada bandingannya sehingga dua kali ganda berbanding susu transisi dan hampir lima kali ganda lebih tinggi berbanding susu matang. Dalam kajian ini jumlah penghasilan susu sehari tidak ditentukan, oleh itu jumlah laktoferin yang diambil oleh bayi tidak dapat dikira. Walau bagaimanapun, kajian oleh WHO (1985) di lima buah negara iaitu di Guatemala, Hungary, Filipina, Sweden dan Zaire mendapat bahawa purata susu ibu yang dihasilkan ialah sebanyak 850 ml sehari. Merujuk kepada kuantiti tersebut, maka dianggarkan bahawa bayi akan menerima lebih kurang 1.3 g laktoferin sehari daripada susu matang. Jumlah laktoferin yang diterima oleh bayi daripada kolostrum adalah lebih banyak berbanding susu transisi dan susu matang. Sekiranya kolosturm tidak digunakan disebabkan ramai di antara ibu-ibu yang membuang kolostrum ini (Yusuf *et al.*, 1995) sudah tentu bayi kehilangan sejumlah besar protein anti infektif yang sangat penting di awal kelahiran. Telah diketahui bahawa laktoferin mempunyai pelbagai peranan sebagai anti bakteria dan anti virus (Chung, 1993). Di samping bertindak sebagai perencat pertumbuhan bakteria, ia juga membantu dalam penyerapan ferum dan pelbagai fungsi lain yang dikaitkan dengan keupayaannya. Jika dibandingkan dengan susu lembu yang hanya mengandungi 0.1 mg/ml laktoferin iaitu hampir sepuluh kali ganda lebih rendah berbanding susu ibu peringkat matang, ternyata bahawa keunggulannya tidak dapat ditandingi. Formula bayi pula sudah tentu mengandungi kurang laktoferin berbanding susu lembu akibat pemrosesan produk tersebut (Maznah *et al.*, 1994). Oleh itu ia tidak berfungsi untuk mengawal infeksi sebagaimana laktoferin dalam susu ibu. Walaupun kepekatan laktoferin dalam kolostrum bovin lebih tinggi berbanding susu ibu peringkat matang tetapi ia tidak menyebabkan perencatan *in vitro* pada pHnya yang semulajadi kerana kepekatan sitrat yang tinggi yang bersaing dengan laktoferin untuk mendapatkan ferum

dan ini menyebabkan ia boleh digunakan untuk pertumbuhan bakteria. Malahan tindakan bakteriostatik pada susu ibu adalah merujuk kepada gabungan tindakan di antara laktoferin dan antibodi bergantung kepada penambahan bikarbonat untuk mengurangkan kesan pergerakan ferum oleh sitrat.

Kajian Ingatan Diet 24 Jam telah mendapati bahawa pengambilan nutrien di kalangan responden kajian agak berbeza pada awal kelahiran berbanding sebulan kemudian. Didapati bahawa pengambilan setelah sebulan kelahiran agak meningkat berbanding dengan peringkat awal kelahiran. Dalam kajian ini hasil analisis menggunakan Pekali Korelasi Pearson menunjukkan bahawa tiada perkaitan yang signifikan di antara pengambilan kalori, protein dan ferum dengan kandungan laktoferin dalam susu ibu pada $p < 0.05$. Ini mungkin disebabkan ciri sampel yang homogenus dari segi taraf pemakanan dan latar belakang mereka. Oleh itu satu kajian di kawasan luar bandar di kalangan keluarga yang mempunyai taraf sosioekonomi yang rendah akan dijalankan bagi membandingkan data yang telah sedia ada.

RUJUKAN

Baynes R, Bezwoda W, Bothwell T, Khan Q & Mansor N (1986). The Non-immune Inflammatory Response: Serial Changes in Plasma Iron, Iron-binding Capacity, Lactoferrin, Ferritin and C-reactive Protein. *Scand J Clin Lab Invest* 46:695-704.

Chong YH, Tee ES, Ng TKW, Kandiah M, Hanis H, Teoh PH, & Siti MS (1984). *Status of Community Nutrition in Poverty Kampung*s. Bulletin No. 22, Institute for Medical Research, K.L.

Chung TDY & Raymond KN (1993). Lactoferrin: The Role of Conformational Changes in Its Iron Binding and Release. *J Am Soc* 155: 6765-6768.

DaVanzo J (1991). Breastfeeding. Proceedings of the Seminar on the Second Malaysian Family Life, Kuala Lumpur, Malaysia. Oct 1991. Sine J, Peng TN, DaVanzo J (eds).

Disler PB, Lynch SR, Charlton RW, Torrance JD, Bothwell TH, Walker RB, & Mayet F (1975). The effect of tea on iron absorption. *Gut* 16:193.

Eiger MS & Olds SW (1981). *Should You or Shouldnt You? The Complete Book of Breastfeeding*. Workman Publications, London.

Hennert P, Brasseur DJ, Delogne-Desnoeck JB, Dramaix MM & Robyn CE (1991). Lysozyme, lactoferrin and secretory immunoglobulin A content in breast milk: influence of duration of lactation, nutrition status, prolactin status and parity of mother. *Am J Clin Nutr* 53:32-39.

Houghton MR, Gracey M, Burke V, Bottrell C, & Spargo RM (1985). Breast milk lactoferrin levels in relation to maternal nutritional status. *J Pediatr Gastroenterol Nut* 4:230-233.

- King FS (1992). *Helping Mothers to Breastfeed*. Nairobi: African Medical Research Foundation, 30-31.
- Kretchmer SA (1993). Proceeding paper in: The role of conformational changes in its iron binding and release. *J Am Chem Soc* 115:6765-6768.
- Lonnerdal B (1984). Iron in breast milk. In: *Iron nutrition in infancy and childhood*. ed A Stekel, Nestle Nutrition Workshop Series. Vol. 4, New York: Raven Press, pp 95-118.
- Lonnerdal B, Keen CL & Hurley LS (1985). Manganese binding proteins in human and cows milk. *Am J Clin Nutr* 41:550-559.
- Mata L & Wyatt R (1971). Host Resistance to Infection. *Am J Clin Nutr* 24:976-986.
- Maznah I & Brock JH (1993). Binding of lactoferrin and transferrin to the human promonocytic cell line U937. *J Biol Chem* 268(29): 21618-21625.
- Maznah I (1993). *Interaction of Lactoferrin with Monocytic and Enterocytic Cell Lines: Its Role in Iron Uptake and Absorption*. Ph.D Thesis, Faculty of Medicine, University of Glasgow.
- Maznah I, Oria R & Brock JH (1994). Effects of heat treatment and other milk proteins on the physiological properties of lactoferrin. Proc 5th ASEAN Food Conference, Kuala Lumpur, pp 140-143.
- Monsen ER, Hallberg L, Layrisse M, Hegsted DM, Cook JD, Mertz W & Finch CA (1978). Estimation of available dietary iron. *Am J Clin Nutr* 31(1):134-141.
- Prentice A, McCarthy A, Stirling DM, Vasquez-Velasquez L, & Ceesay SM (1989). Breast milk IgA and lactoferrin survival in the gastrointestinal tract-A study in rural Gambian children. *Acta Paediatr Scand* 78:505-512.
- Prentice A, Prentice AM, Cole TJ, Paul AA, & Whitehead RG (1984). Breastmilk antimicrobial factors of rural Gambian mothers. I. Influence of stage of lactation and maternal plane of nutrition. *Acta Paediatr Scand* 73:796-802.
- Saarinen UM, Siimes MA, & Dallman PR (1977). Iron absorption in infants: high bioavailability of breastmilk iron as indicated by the extrinsic tag method of iron absorption and by the concentration of serum ferritin. *J Paediatr* 91:36-39.
- Sanchez L, Maznah L, Liew FL, & Brock JH (1996). Iron transport across Caco-2 cell monolayers. Effect of transferrin, lactoferrin and nitric oxide. *Biochim Biophys Acta* 1289:293-297.
- Shaikh Alaudeen, Nor Muslim, Kamarul Faridah, Ali Azman & Hamid Arshat (1988). Electrolyte Profile of Malaysian Mothers Milk. *Mal J Repord Health* 6(2): 102-107.

Siti Hasmah (1979). *Adat, Kesihatan dan Wanita*. Institut Kesihatan Umum, Kuala Lumpur

Tee ES, Mohd Ismail Noor, Mohd Nasir A & Khatijah I (1988). *Nutrient Composition of Malaysian Foods*. ASEAN SubCommittee on Protein: Food Habits Research and Development, Kuala Lumpur.

Teoh (1975). Recommended Daily Dietary Intakes for Peninsular Malaysia. *Med J Malaysia* 30:38-42.

Wan A Manan (1995). Breastfeeding and infant feeding practices in selected rural and semi-urban communities in Kemaman, Terengganu. *Mal J Nutr* 1:51-61.

World Health Organization (1985). *The Quantity and Quality of Breast Milk*. Report on the WHO Collaborative study on breastfeeding: WHO, Geneva.

Yadav M (1984). Immunological Status of Breast Milk. Laporan Seminar Penyusuan Ibu Pilihan Moden. Kementerian Kesihatan Malaysia, Kuala Lumpur.

Yusof YAM, Mazlan M, Ibrahim N & Jusoh NM (1995). Infant feeding practices and attitudes of mothers in Kelantan towards breastfeeding. *Med J Malaysia* 50:150.