

**PERBEDAAN PANJANG SERTA BERAT TUBUH FETUS TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE-DAWLEY TERHADAP
PEMBERIAN ASAM FOLAT PADA PERIODE
KEHAMILAN YANG BERBEDA**

(Skripsi)

Oleh
RIDHO PAMBUDI



FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDARLAMPUNG
2017

**PERBEDAAN PANJANG SERTA BERAT TUBUH FETUS TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE-DAWLEY TERHADAP
PEMBERIAN ASAM FOLAT PADA PERIODE
KEHAMILAN YANG BERBEDA**

Oleh

RIDHO PAMBUDI

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN

Pada

Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung



PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017

ABSTRACT

THE DIFFERENCE OF LENGTH AND WEIGHT OF FETUS OF WHITE RAT (*Rattus norvegicus*) SPRAGUE-DAWLEY STRAIN TOWARDS FOLIC ACID SUPPLEMENTATION IN DIFFERENT PERIOD OF PREGNANCY

By

Ridho Pambudi

Background: Low birth weight occurred more than 20 million cases annually worldwide. Most cases are caused by the role of nutritional deficiency in pregnant women. The intake of nutrients, especially folic acid may affect pregnancy outcome, in this case the length and weight of the fetus. The objective of this study was to determine the effect of folic acid on the pregnancy outcome at various trimester of pregnancy.

Methods: This was an experimental study using 25 rats (*Rattus norvegicus*) Sprague-Dawley strain divided into 5 groups. The group is differentiated by the period of folic acid administration of the rats' gestation period. Data were analyzed with the Shapiro-Wilk normality test. The significance test performed by One Way Anova test, followed by LSD post hoc test to find out the significance between groups.

Results: The results showed that there were significant differences in the length and weight of the fetus between experimental groups ($p < 0.001$). Moreover, the difference between groups both in length and weight of the fetus' body was almost found in all groups, subsequent to the post hoc test ($p < 0.05$).

Conclusion: There is a difference length and weight of fetal white rat (*Rattus norvegicus*) towards folic acid supplementation in different pregnancy period. Folic acid supplementation may affect the length and weight of fetus, especially in the last trimester of pregnancy.

Keywords: Folic Acid, Weight, Pregnancy, Outcome, Length

ABSTRAK

PERBEDAAN PANJANG SERTA BERAT TUBUH FETUS TIKUS PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS*) GALUR SPRAGUE-DAWLEY TERHADAP PEMBERIAN ASAM FOLAT PADA PERIODE KEHAMILAN YANG BERBEDA

Oleh

Ridho Pambudi

Latar belakang: Kelahiran dengan berat lahir rendah terjadi lebih dari 20 juta kasus setiap tahunnya di seluruh dunia. Kebanyakan kasus terjadi akibat defisiensi nutrisi pada ibu hamil. Asupan nutrisi terutama asam folat dapat mempengaruhi hasil keluaran kehamilan, dalam hal ini panjang dan berat tubuh fetus. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh asam folat terhadap keluaran kehamilan pada berbagai trimester kehamilan.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley terbagi dalam 5 kelompok. Kelompok tersebut dibedakan atas periode pemberian asam folat pada periode kehamilan induk tikus. Data dianalisis dengan uji normalitas Shapiro-Wilk. Uji kebermaknaan dilakukan dengan uji *One Way Anova*, dilanjutkan dengan uji *post hoc* LSD untuk mengetahui letak kebermaknaan antarkelompok.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada panjang dan berat tubuh fetus diantara kelompok-kelompok percobaan ($p=0,000$). Selain itu, perbedaan antarkelompok baik panjang maupun berat tubuh fetus hampir ditemukan di semua kelompok setelah dilakukannya uji *post hoc* ($p<0,05$).

Simpulan: Terdapat perbedaan panjang serta berat tubuh fetus tikus putih (*Rattus norvegicus*) terhadap pemberian asam folat pada periode kehamilan yang berbeda. Suplementasi asam folat dapat mempengaruhi panjang dan berat fetus terutama pada trimester akhir kehamilan.

Kata kunci: Asam Folat, Berat, Kehamilan, Keluaran, Panjang

Judul Penelitian : **PERBEDAAN PANJANG SERTA BERAT TUBUH FETUS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE-DAWLEY TERHADAP PEMBERIAN ASAM FOLAT PADA PERIODE KEHAMILAN YANG BERBEDA**

Nama Mahasiswa : Ridho Pambudi

Nomor Pokok Mahasiswa : 1318011140

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran



MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

dr. Rodiani, S.Ked., M.Sc., Sp.OG

NIP. 19790419 200312 2 002

Dr. Dyah W.S.R. Wardani, S.K.M., M.Kes.

NIP. 19720628 199702 2 002

2. Dekan Fakultas Kedokteran

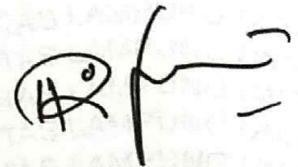
Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA

NIP. 19701208 200112 1 001

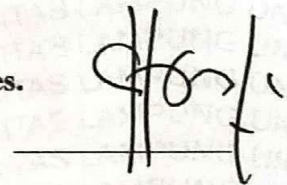
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : dr. Rodiani, S.Ked., M.Sc., Sp.OG

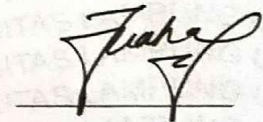


Sekretaris : Dr. Dyah W.S.R. Wardani., S.K.M., M.Kes.



Penguji

Bukan Pembimbing : dr. Ratna D.P. Sari, S.Ked., Sp.OG



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr.dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA

NIP. 19701208 200112 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 16 Januari 2017

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul "PERBEDAAN PANJANG SERTA BERAT TUBUH FETUS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE-DAWLEY TERHADAP PEMBERIAN ASAM FOLAT PADA PERIODE KEHAMILAN YANG BERBEDA" adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarism.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandarlampung, Januari 2017

Pembuat pernyataan,



Ridho Pambudi

NPM 1318011140

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jakarta pada tanggal 28 September 1994, sebagai anak ketiga dari tiga bersaudara. Penulis merupakan putra dari Bapak Salekan, S.H., M.M., dan Ibu Maryati, S.A.P.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) diselesaikan di TK Sentosa pada tahun 2000. Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD Negeri Jatirasa III pada tahun 2006, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Negeri 9 Bekasi pada tahun 2009, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA Negeri 1 Bekasi pada tahun 2012.

Tahun 2013, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah aktif pada organisasi Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung (BEM FK Unila) sebagai anggota EA BEM periode 2013-2014, pada PMPATD PAKIS Rescue Team sebagai staf divisi pendidikan dan pelatihan periode 2014-2015, Forum Studi Islam Ibnu Sina (FSI Ibnu Sina) Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sebagai staf dinas dana usaha periode 2014-2015.

Bismillahirrahmanirrahim

“Sebuah persembahan sederhana untuk Ibu dan Ayahanda tersayang. Orang tua yang selalu aku harapkan keridhoannya setelah ridho Allah SWT. Orang tua yang telah mendidik dan mencurahkan cintanya dengan tulus serta tiada henti berdo'a kepada Allah SWT demi keberhasilan dan kesuksesanku. Alhamdulillah ya Allah, Kau amanatkan aku kepada mereka”

SANWACANA

Puji syukur Penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, karena atas rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan. Salawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad S.A.W.

Skripsi penulis dengan judul “**Perbedaan Panjang Serta Berat Tubuh Fetus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague-Dawley Terhadap Pemberian Asam Folat Pada Periode Kehamilan Yang Berbeda**” ini, merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Lampung dan kepada Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung; Seluruh Staf Dosen FK Unila atas ilmu dan pengalaman berharga yang telah diberikan kepada penulis untuk menambah wawasan yang menjadi landasan untuk mencapai cita-cita; sampai kepada seluruh Staf Akademik, TU dan Administrasi FK Unila, serta pegawai yang turut membantu dalam proses penelitian skripsi.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada dosen-dosen pembimbing pada skripsi ini yaitu kepada dr. Rodiani, S.Ked., M.Sc., Sp.OG., selaku pembimbing utama atas kesediaannya dalam meluangkan waktu disela-sela kesibukannya untuk memberikan bimbingan, ilmu, kritik, saran, nasehat, motivasi

dan bantuan bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini; kepada Dr. Dyah Wulan S.R.W, SKM., M.Kes., selaku pembimbing pendamping atas semua bantuan, saran, bimbingan serta pengarahan yang luar biasa ditengah kesibukan beliau untuk membantu dalam penyusunan skripsi ini; kepada dr. Ratna Dewi Puspita Sari, S.Ked., Sp.OG., selaku pembahas atas kesediaannya dalam memberikan koreksi, kritik, saran, nasehat, motivasi, dan bantuan untuk perbaikan penulisan skripsi yang dilakukan oleh penulis. Terima kasih juga kepada dr. Agustyas Tjiptaningrum, S.Ked., Sp.PK., selaku pembimbing akademik dari semester satu hingga semester tujuh, atas kesediannya memberikan arahan, masukan, dan motivasi selama proses pembelajaran.

Ucapan terima kasih, tidak lupa penulis sampaikan kepada keluarga tercinta mulai dari ibunda tercinta, Maryati, terimakasih untuk selalu mendoakan demi tercapainya semua cita-cita penulis. Terima kasih atas cinta dan kasih sayang yang telah diberikan. Terima kasih atas dukungan, nasihat, motivasi, dan segala pengorbanan yang telah dilakukan demi tercapainya masa depan yang baik bagi penulis; kepada ayahanda, Salekan, terimakasih untuk segala cinta dan kasih sayang yang selalu dipanjatkan dalam do'a. Terima kasih atas segala pengorbanan, dorongan, motivasi, dan pembelajaran hidup yang telah diberikan demi tercapainya cita-cita penulis; kepada kakak-kakaku tersayang, Leti Indah Oktaviani dan Cahya Suspimantari, yang menjadi penghibur atas segala gundah gulana selama proses penulisan skripsi.

Terima kasih juga untuk Annisa Rusfiana atas segala kesabaran, bantuan, dan motivasi selama proses penyelesaian skripsi. Terima kasih kepada para sahabat, Fahmi, Luthfi, Fanji, Rommy, Azzam, Hanggoro, Daksa, terima kasih

atas segala motivasi, dorongan, perhatian, dan segala kritik yang membangun selama proses penyelesaian skripsi. Terima kasih juga untuk kerjasama dan kekompakannya kepada tim skripsi rattata's, Annisa R dan Analia, selama penelitian skripsi ini, serta teman-teman terdekat, Raka, Restu, Benny, Nando, Anam, Gilang, Teguh, Edgar, Irfan, Andika terima kasih telah memberikan dukungan dan menjadi penghibur disaat gundah gulana. Tidak lupa, sahabat-sahabat angkatan 2013 dan seluruh keluarga besar FK Unila yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Terimakasih atas kebersamaan dan kerja sama dalam mengemban ilmu.

Akhir kata, Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Akan tetapi, sedikit harapan semoga skripsi yang sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua. Amin YRA.

Bandar Lampung, Januari 2017

Penulis,

Ridho Pambudi

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum.....	3
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Kehamilan	6
2.2. Embriologi Manusia.....	7
2.3. Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur Spague-Dawley	8
2.3.1. Biologi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	8
2.3.2. Kehamilan Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	11
2.3.3. Embriologi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	15
2.4. Asam Folat	18
2.4.1. Definisi.....	18
2.4.2. Absorpsi, Metabolisme, dan Simpanan	19
2.5. Kebutuhan Asam Folat Dalam Masa Kehamilan.....	21
2.6. Pengaruh Pemberian Asam Folat Pada Fetus.....	21
2.7. Kerangka Penelitian	23
2.7.1. Kerangka Teori	23
2.7.2. Kerangka Konsep.....	24
2.8. Hipotesis.....	24
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1. Jenis Penelitian.....	25
3.2. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	25
3.3. Subjek Penelitian.....	25
3.3.1. Populasi Penelitian.....	25
3.3.2. Sampel Penelitian	26
3.4. Desain Penelitian.....	27

3.5. Identifikasi Variabel Penelitian	29
3.5.1. Variabel Terikat	29
3.5.2. Variabel Bebas	29
3.6. Definisi Operasional Variabel Penelitian	29
3.7. Alat dan Bahan Penelitian	31
3.7.1. Alat Penelitian.....	31
3.7.2. Bahan Penelitian	32
3.8. Cara Kerja	32
3.8.1. Prosedur Pemilihan Hewan Uji.....	32
3.8.2. Prosedur Pemeliharaan Hewan Uji	33
3.8.3. Prosedur Pemberian Dosis Asam Folat	33
3.8.4. Prosedur Pembedahan.....	35
3.8.5. Prosedur Pengukuran Panjang Tubuh Fetus Tikus	36
3.8.6. Prosedur Pengukuran Berat Tubuh Fetus Tikus	36
3.9. Diagram Alur Penelitian.....	36
3.10. Teknik Analisis Data	38
3.11. Etika Penelitian.....	38

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian	39
4.2. Pembahasan	42
4.2.1. Panjang Tubuh Fetus Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	43
4.2.2. Berat Tubuh Fetus Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	45

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan	49
5.2. Saran.....	49

DAFTAR PUSTAKA	50
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data Biologis Tikus	10
2. Embriologi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	15
3. Definisi Operasional Variabel	30
4. Hasil Rerata Panjang Tubuh Fetus Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) pada Kelompok-Kelompok Percobaan	39
5. Hasil Rerata Berat Tubuh Fetus Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) pada Kelompok-Kelompok Percobaan	39
6. Perbandingan Rerata Panjang dan Berat Tubuh Fetus Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Antarkelompok Percobaan	40
7. Analisis <i>post hoc</i> LSD Perbandingan Panjang Tubuh Fetus Antarkelompok Percobaan	41
8. Analisis <i>post hoc</i> LSD Perbandingan Berat Tubuh Fetus Antarkelompok Percobaan	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Perkembangan Embrio Pada Hari Ke-1 Sampai Ke-18	7
2. Perkembangan Embrio Pada Hari Ke-28 Sampai Ke-46	8
3. Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur Sprague-Dawley	11
4. Gambaran Apusan Vagina Tikus Putih Betina Setelah Perkawinan	12
5. Struktur Kimia Asam Folat	19
6. Kerangka Teori.....	23
7. Kerangka Konsep	24
8. Diagram Alur Penelitian.....	37

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kelahiran dengan berat lahir rendah terjadi lebih dari 20 juta kasus setiap tahunnya di seluruh dunia. Kebanyakan kasus tersebut terjadi akibat peran defisiensi nutrisi pada maternal dan bayi. Defisiensi nutrisi tersebut didapat dari tidak adekuatnya asupan dan infeksi selama kehamilan. Defisiensi nutrisi yang sering dan biasanya terjadi pada wanita hamil antara lain defisiensi folat, besi dan zinc dan vitamin A, B6, B12, C, E dan riboflavin (Zerfu & Ayele, 2013).

Folat memiliki peran dalam metabolisme satu unit-karbon untuk sintesis DNA dan pembelahan sel, regulasi dari ekspresi gen, metabolisme asam amino, dan sintesis neurotransmitter (Fekete *et al.* 2012). Peran folat dalam sintesis DNA dan pembelahan sel sangat penting untuk proses pertumbuhan sel, termasuk pada embrio, sumsum tulang, mukosa intestinal, dan kulit (Grosvenor & Smolin, 2002).

Kebutuhan asupan folat pada wanita hamil meningkat 5-10 kali lipat dibandingkan wanita yang tidak hamil (Fekete *et al.*, 2012). Kebutuhan folat meningkat karena pada masa awal pertumbuhan fetus terjadi kondisi puncak sintesis asam nukleat dan protein. Bila terjadi defisiensi folat, sintesis asam nukleat akan terhambat dan sel-sel tidak mampu memfasilitasi proses replikasi

DNA. Hal tersebut dapat menyebabkan adanya gangguan fertilitas pada maternal dan proses embriogenesis pada fetus (Istiadjid, 2004).

Proses embriogenesis yang terhambat akan menyebabkan gangguan pertumbuhan fetus yang salah satu bentuknya antara lain adalah *Intrauterine Growth Restriction* (IUGR). IUGR yang terjadi pada kehamilan diindikasikan dengan berat tubuh fetus kurang dari 10 persentil dan dapat diikuti dengan deviasi kebawah untuk pengukuran tinggi *symphysis-fundal* pada fetus (Lausman *et al.*, 2013).

Kadar folat dalam darah dan tubuh maternal dengan bayi mengalami IUGR hanya berjumlah setengah jika dibandingkan bayi yang lahir normal. Hal tersebut mengindikasikan risiko terjadinya IUGR menurun pada wanita dengan kadar folat yang tinggi (Lindblad *et al.*, 2005). Studi lain juga menyampaikan bahwa kadar folat dalam sel darah merah merupakan prediktor kuat dari IUGR. Studi tersebut menyatakan bahwa kadar folat dalam darah maternal yang rendah pada pertengahan kehamilan berhubungan dengan dialaminya IUGR (Furness *et al.*, 2013).

Oleh karena itu, wanita yang merencanakan hamil dianjurkan untuk mengkonsumsi asam folat 400 µg/hari dari prekonsepsi sampai akhir dari trimester awal (McNulty *et al.*, 2013). Namun, asupan folat yang adekuat tidak hanya dibutuhkan pada masa perikonseptual, tetapi juga selama masa kehamilan untuk mencapai keluaran kehamilan yang memuaskan, yang salah satunya adalah berat tubuh yang lebih baik (Tamura & Picciano, 2006; Czeizel A. E. *et al.*, 2010). Folat juga dibutuhkan untuk mencapai pertumbuhan maksimal untuk mencegah terjadinya IUGR terutama pada trimester akhir, karena percepatan pertumbuhan

dari fetus dan sistem uteroplasental, serta akumulasi penyimpanan folat pada fetus (Fekete *et al.*, 2012).

Studi-studi sebelumnya menjelaskan manfaat suplementasi asam folat untuk mempengaruhi keluaran kehamilan pada berbagai periode kehamilan, terutama dalam pencegahan terjadinya IUGR (Tamura & Picciano, 2006; Fekete *et al.*, 2012; Furness *et al.*, 2013; Lindblad *et al.*, 2005). Melalui penelitian ini, peneliti ingin melihat adakah perbedaan panjang serta berat tubuh fetus tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley yang diberikan asam folat pada setiap periode pemberian yang berbeda berdasarkan trimester kehamilannya.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan di atas, maka dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

- a. Apakah terdapat perbedaan panjang tubuh fetus tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley terhadap pemberian asam folat pada masing-masing trimester?
- b. Apakah terdapat perbedaan berat tubuh fetus tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley terhadap pemberian asam folat pada masing-masing trimester?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah mengetahui perbedaan panjang dan berat tubuh fetus tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley terhadap pemberian asam folat.

1.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Mengetahui perbedaan panjang tubuh fetus tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley yang diberi asam folat pada berbagai periode pemberian yang berbeda.
- b. Mengetahui perbedaan berat tubuh fetus tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley yang diberi asam folat pada berbagai periode pemberian yang berbeda.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini antara lain sebagai berikut.

- a. Bagi peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pemahaman peneliti mengenai pengaruh asam folat dalam kehamilan, sebagai aplikasi atas disiplin ilmu yang telah dipelajari, serta sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran.

- b. Bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pertimbangan kepada masyarakat untuk dapat mengkonsumsi suplementasi asam folat pada masa kehamilan dalam hubungannya meningkatkan kualitas keluaran janin.

- c. Bagi peneliti selanjutnya

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan salah satu sumber informasi untuk pengembangan penelitian selanjutnya, terutama mengenai pemberian asam folat pada setiap trimester kehamilan dalam mempengaruhi kualitas keluaran janin.

d. Bagi ilmu pengetahuan kesehatan

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan salah satu acuan untuk penerapan ilmu kesehatan mengenai suplementasi asam folat pada setiap trimester kehamilan terutama kelahiran kehamilan berupa panjang dan berat tubuh fetus .

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kehamilan

Kehamilan adalah fertilisasi atau penyatuan dari spermatozoa dan ovum dan dilanjutkan dengan nidasi atau implantasi. Pada kehamilan tunggal, umumnya gestasi berlangsung selama 40 minggu (280 hari) dari hari pertama menstruasi terakhir sampai tanggal diperkirakan persalinan (*American College of Obstetricians and Gynecologists*, 2013). Kehamilan terbagi dalam 3 trimester, trimester kesatu berlangsung dalam 12 minggu (minggu ke-1 sampai minggu ke-12), trimester kedua berlangsung selama 15 minggu (minggu ke-13 sampai minggu ke-27), dan trimester ketiga berlangsung selama 13 minggu (minggu ke-28 sampai minggu ke-40) (Adriaansz & Hanifah, 2014).

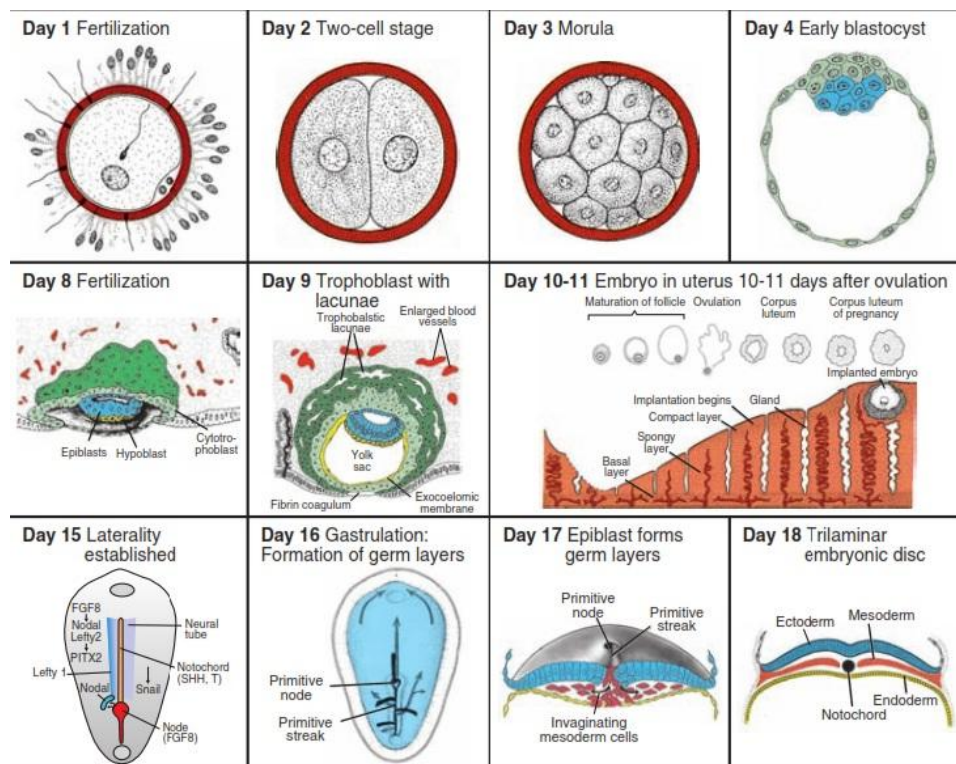
Pada masa kehamilan, faktor kesehatan ibu yang berpengaruh besar pada kesehatan janin diantaranya penyakit pada ibu, lingkungan, reaksi imunologis tubuh, pemakaian obat, trauma, dan status gizi (Cunningham *et al*, 2012). Gangguan pada status gizi pada masa kehamilan umumnya berupa defisiensi folat, besi dan zinc dan vitamin A, B6, B12, C, E dan riboflavin (Zerfu & Ayele, 2013).

2.2. Embriologi Manusia

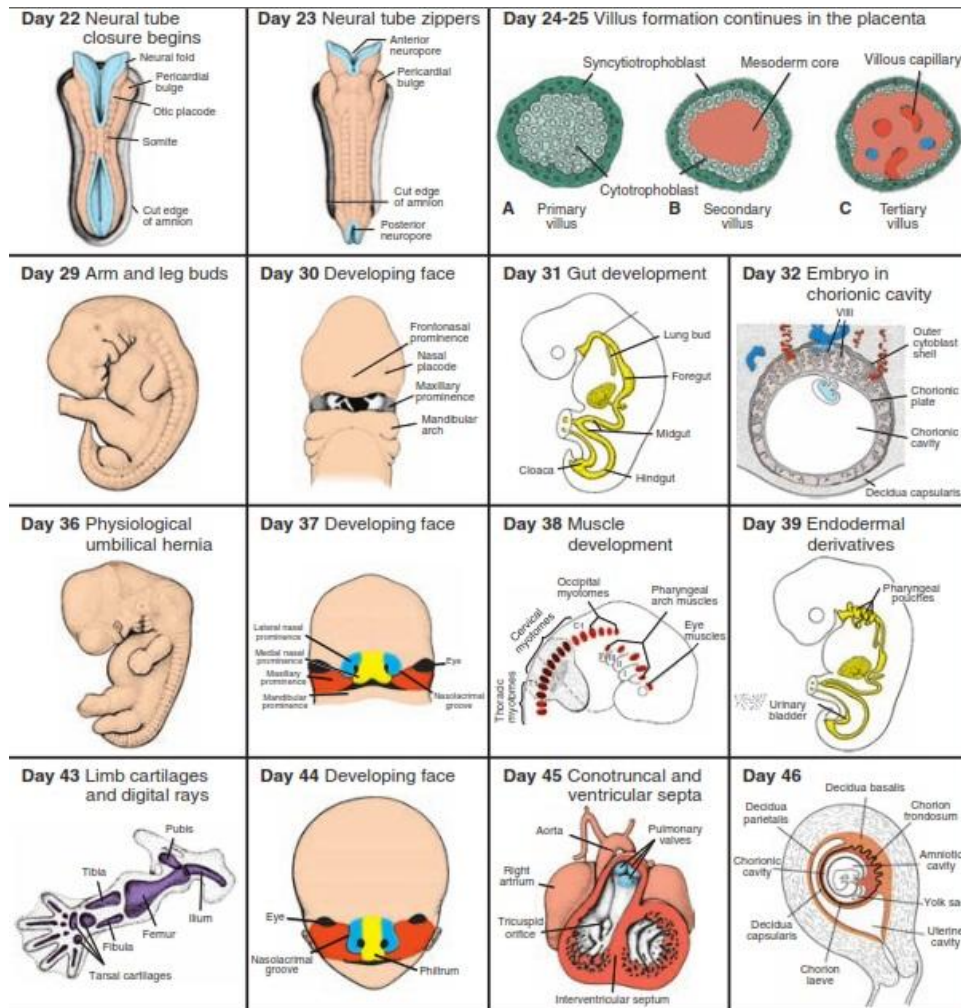
Proses perkembangan dari satu sel melalui periode pembentukan primordial organ (8 minggu pertama pada perkembangan manusia) disebut masa

embriogenesis atau masa organogenesis; periode dari tahap ini hingga lahir disebut masa janin (*fetal period*) (Sadler, 2012).

Periode embrionik, atau periode organogenesis, berlangsung dari minggu ketiga hingga kedelapan kehamilan. Periode ini adalah waktu ketika ketiga lapisan geminativum (ektoderm, mesoderm, dan endoderm) menghasilkan sejumlah jaringan dan organ spesifik. Pada akhir masa embrionik ini, system-sistem organ utama telah terbentuk sehingga pada akhir bulan kedua gambaran utama bagian-bagian eksternal tubuh sudah dapat dikenali (Sadler, 2012).



Gambar 1. Perkembangan Embrio Pada Hari Ke-1 Sampai Ke-18 (Sadler, 2012).



Gambar 2. Perkembangan Embrio Pada Hari Ke-28 Sampai Ke-46 (Sadler, 2012).

2.3. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Spague-Dawley

2.3.1. Biologi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau disebut juga disebut juga tikus norwegia adalah salah satu hewan yang umum digunakan dalam eksperimental laboratorium. Taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut (Sharp & Villano, 2013).

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: Rattus norvegicus

Tikus mempunyai sifat yang membedakannya dari hewan percobaan lain yaitu tikus tidak dapat muntah. Hal tersebut karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat esofagus bermuara ke dalam lambung dan tidak mempunyai kantong empedu (Smith & Mangkoewidjojo, 1998). Selain itu, tikus putih memiliki keuntungan sebagai model yang mencerminkan karakter fungsional dari sistem tubuh mamalia. Tikus juga merupakan salah satu hewan eksperimental yang populer dalam studi fungsi reproduksi. Salah satu keuntungannya adalah memiliki waktu siklus reproduksi yang lebih singkat (Krinke, 2000). Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian di antaranya perkembangbiakan cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, dan mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan cukup tahan terhadap perlakuan. Biasanya pada umur empat minggu tikus

putih mencapai berat 35-40 gram, dan berat dewasa rata-rata 200-250 gram (Akbar, 2010). Data biologis tikus putih tersedia dalam tabel 1.

Tabel 1. Data Biologis Tikus (Smith & Mangkoewidjojo, 1998; Malole & Pramono, 1999)

Kriteria	Keterangan ¹⁾	Keterangan ²⁾
Berat lahir	5-6 gr	5-6 gr
Berat badan dewasa		
Jantan	300-400 gr	450-520 gr
Betina	250-300 gr	250-300 gr
Kecepatan Tumbuh	5gr/hari	-
Lama hidup	2-3 tahun, dapat 4 tahun	2,5 -3,5 tahun
Lama produksi ekonomis	1 tahun	-
Perkawinan kelompok	3 betina : 1 jantan	-
Siklus birahi	4-5 hari	4-5 hari
Lama bunting	20-22 hari	21-23 hari
Jumlah anak	Rata-rata 9, dapat 20	6-12 ekor
Kawin sesudah beranak	1-24 jam	-
Umur disapih	21 hari	21 hari
Umur dewasa	40-60 hari	-
Umur dikawinkan		
Jantan	10 minggu	-
Betina	10 minggu	-
Konsumsi makanan	-	10g/100g BB/hari
Konsumsi air minum	-	10-12ml/100g BB/hari
Aktivitas	Nokturnal (malam)	
Volume darah	57-70 ml/KgBB	54-70 ml/KgBB
Phospholipid	-	36-130 mg/dl
Trigliserida	-	26-145 mg/dl
Cholesterol	-	40-130 mg/dl

Keterangan: 1) Berdasarkan Smith dan Mangkoewidjojo

2) Berdasarkan Malole dan Pramono

Galur tikus yang sering digunakan antara lain Wistar, Sprague-Dawley, Osborne-Mendel, Long-Evans, Holtzman, Slonaker, Albany. Namun, diantara galur tersebut, Wistar dan Sprague-Dawley merupakan tikus yang paling populer digunakan untuk eksperimen. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley (Krinke, 2000).

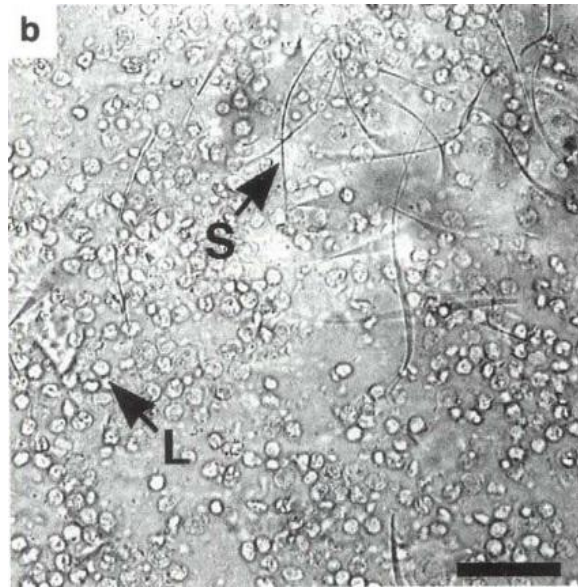


Gambar 3. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague-Dawley (Janvier Labs, 2013).

2.3.2. Kehamilan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Kehamilan tikus putih terjadi selama 21-22 hari. Dalam kontrol pencahayaan (14 jam terang:10 jam gelap), 37% tikus lahir di siang hari ke-21, 20% tikus lahir selama malam hari pada hari ke-21 menuju hari ke-22 dan 42% tikus lahir di siang hari pada hari ke-22. Puncak kelahiran terjadi pada pukul 13.00-15.00 pada hari ke-21 dan 9.00-11.00 pada hari ke 22 (Krinke, 2000).

Kehamilan tikus putih dapat dibuat dengan mengawinkan tikus betina dan tikus jantan. Untuk mengawinkan, tikus jantan dimasukkan ke kandang tikus betina yang sudah cukup umur dan ditinggal semalaman. Apusan vagina dapat dilakukan pada keesokan paginya. Apusan akan mengandung sejumlah sperma jika kopulasi telah terjadi. Selain itu, dapat juga ditemukan sumbat vagina pada tikus betina yang telah kawin. Sumbat ini berupa air mani yang menjendal berwarna kekuningan berasal dari sekresi kelenjar khusus tikus jantan dan sebagai penetapan awal kehamilan (Krinke, 2000).



Gambar 4. Gambaran Apusan Vagina Tikus Putih Betina Setelah Perkawinan (Krinke, 2000).

Pada beberapa mamalia siklus reproduksi disebut juga sebagai siklus estrus. Estrus adalah suatu periode secara psikologis maupun fisiologis yang bersedia menerima pejantan untuk berkopulasi. Siklus estrus merupakan cerminan dari berbagai aktivitas yang saling berkaitan antara hipotalamus, hipofisis, dan ovarium. Selama siklus estrus terjadi berbagai perubahan baik pada organ reproduksi maupun pada perubahan tingkah laku seksual.

Tikus dan mencit termasuk hewan poliestrus yang artinya, dalam periode satu tahun terjadi siklus reproduksi yang berulang-ulang. Siklus estrus tikus bisa selesai dalam 6 hari. Meskipun pemilihan waktu siklus dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor eksteroseptif seperti cahaya, suhu, status nutrisi dan hubungan sosial. Setiap fase dari daur estrus dapat dikenali melalui pemeriksaan apus vagina. Apus vagina merupakan cara yang sampai kini dianggap relatif paling mudah dan murah untuk mempelajari kegiatan

fungsional ovarium. Melalui apus vagina dapat dipelajari berbagai tingkat diferensiasi sel epitel vagina yang secara tidak langsung mencerminkan perubahan fungsional ovarium. Siklus secara kasar dapat dibagi menjadi empat stadium sebagai berikut (Akbar, 2010).

a. Fase proestrus

Proestrus adalah fase sebelum estrus yaitu periode dimana folikel ovarium tumbuh menjadi folikel *de graaf* dibawah pengaruh FSH. Fase ini berlangsung 12 jam. Setiap folikel mengalami pertumbuhan yang cepat selama 2-3 hari sebelum estrus sistem reproduksi memulai persiapan-persiapan untuk pelepasan ovum dari ovarium. Akibatnya sekresi estrogen dalam darah semakin meningkat sehingga akan menimbulkan perubahan-perubahan fisiologis dan saraf, disertai kelakuan birahi pada hewan-hewan betina peliharaan. Perubahan fisiologis tersebut meliputi pertumbuhan folikel, meningkatnya pertumbuhan endometrium, uteri dan serviks serta peningkatan vaskularisasi dan keratinisasi epitel vagina pada beberapa spesies. Preparat apus vagina pada fase proestrus ditandai akan tampak jumlah sel epitel berinti dan sel darah putih berkurang, digantikan dengan sel epitel bertanduk, dan terdapat lendir yang banyak.

b. Fase estrus

Estrus adalah fase yang ditandai oleh penerimaan pejantan oleh hewan betina untuk berkopulasi, fase ini berlangsung selama 12 jam. Folikel *de graaf* membesar dan menjadi matang serta ovum mengalami perubahan-

perubahan kearah pematangan. Pada fase ini pengaruh kadar estrogen meningkat sehingga aktivitas hewan menjadi tinggi, telinganya selalu bergerak-gerak dan punggung lordosis. Ovulasi hanya terjadi pada fase ini dan terjadi menjelang akhir siklus estrus. Pada preparat apus vagina ditandai dengan menghilangnya leukosit dan epitel berinti, yang ada hanya epitel bertanduk dengan bentuk tidak beraturan dan berukuran besar.

c. Fase metestrus

Metestrus adalah periode segera sesudah estrus di mana corpus luteum bertumbuh cepat dari sel granulose folikel yang telah pecah di bawah pengaruh LH dan adenohipofisis. Metestrus sebagian besar berada di bawah pengaruh progesteron yang dihasilkan oleh corpus luteum. Progesteron menghambat sekresi FSH oleh adenohipofisis sehingga menghambat pembentukan folikel de Graaf yang lain dan mencegah terjadinya estrus. Selama metestrus uterus mengadakan persiapan-persiapan seperlunya untuk menerima dan memberi makan pada embrio. Menjelang pertengahan sampai akhir metestrus, uterus menjadi agak lunak karena pengendoran otot uterus. Fase ini berlangsung selama 21 jam. Pada preparat apus vagina ciri yang tampak yaitu epitel berinti dan leukosit terlihat lagi dan jumlah epitel menanduk makin lama makin sedikit.

d. Fase diestrus

Diestrus adalah periode terakhir dan terlama siklus birahi pada ternak-ternak dan mamalia. Fase ini berlangsung selama 48 jam. Korpus luteum

menjadi matang dan pengaruh progesteron terhadap saluran reproduksi menjadi nyata. Endometrium lebih menebal dan kelenjar-kelenjar berhipertrofi. Serviks menutup dan lendir vagina mulai kabur dan lengket. Selaput mukosa vagina pucat dan otot uterus mengendor. Pada akhir periode ini corpus luteum memperlihatkan perubahan-perubahan retrogresif dan vakualisasi secara gradual. Endometrium dan kelenjar-kelenjarnya beratrofi atau beregresi ke ukuran semula. Mulai terjadi perkembangan folikel-folikel primer dan sekunder dan akhirnya kembali ke proestrus. Pada preparat apus vagina dijumpai banyak sel darah putih dan epitel berinti yang letaknya tersebar dan homogen.

2.3.3. Embriologi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tahapan embriologi tikus dapat juga dilihat berdasarkan standar tahapan yang dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Embriologi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Altman & Katz, 2012).

Standar Tahapan (Witschi)	Usia (hari)	Ukuran (mm)	Identifikasi Tahapan
Pembelahan dan Blastula			
1	1	0,07	1 sel (dalam saluran telur)
2	2	0,08 x 0,06	2 sel (dalam saluran telur)
3	3	0,08 x 0,05	4 sel (dalam saluran telur)
4	3,5		8-12 sel (dalam saluran telur)
5	3,25	0,08 x 0,04	Morula (dalam rahim)
6	4	0,08 x 0,03	Blastokista awal (dalam rahim)
7	5	0,12 x 0,05	Blastokista bebas (dalam rahim)

Tabel 2. (Lanjutan)

Standar Tahapan (Witschi)	Usia (hari)	Ukuran (mm)	Identifikasi Tahapan
Gastrula			
8	6	0,28 x 0,07	Implantasi blastokista, dengan sel trofoblas dan masa sel dalam; hasil dari endoderm (hypoblast)
9	6,75		Diplotrophoblast; massa sel dalam ditutup dengan endoderm
10	7,25	0,3 x 0,1	Menuju implantasi lengkap; mudigah berdiferensiasi ke dalam dan ke luar embrio
11	7,75	0,5 x 0,1	Implantasi komplit; terbentuk kista amnion primer; terbentuk kerucut ectoplacental
Garis Primitif			
12	8,5	1,04 x 0,26	Adanya hubungan antara rongga amnion dan ektokorionik; hilangnya lipatan amnion; muncul garis primitif; awal pembentukan 3 lapisan mudigah; lempeng jantung dan perikardium
Neurula			
13	9	10	Presomite neurula; fusi-lipatan dan tangkai korio-amnion; terbentuk lempeng saraf dan tunas tangkai alantois
14	9,5	1,5	Somites 1-4 (oksipital); lapisan mudigah dengan 3 rongga: kista ectochorionic, exocoelom dan rongga amnion; kista ectochorionic hancur; tangkai allantoic menuju ke exocoelom
15	10	2	Somites 5-12 (cervical); Terbentuk lengkung viceral ke-1; kista ectochorionic menyatu dengan ectoplacenta dan dengan tangkai allantoic; regresi perifer (distal) kuning telur dan trofektoderm (diplotrophoblast); muncul membran Reichert; gonias dalam endoderm
16	10,5	2,4	Somites 13-20 (upper thoracic), terbentuk lengkungan viceral ke-2; terbentuk cakram dan kantung plasenta kuning; terbentuk lipatan apendikularis
17	11	3,3	Somites 21-25 (lower thoracic); tangkai kuning telur menutup pada tingkat somite 15; gonias utama dalam mesentrium; garis primitif menghilang; kuncup ekor terlihat; kuncup lengan dan kaki tampak

Table 2. (Lanjutan)

Standar Tahapan (Witschi)	Usia (hari)	Ukuran (mm)	Identifikasi Tahapan
Kuncup Ekor Embrio			
18	11,5	3,8	Somites 26-28 (upper lumbar), terbentuk lengkung visceral ke-3; kuncup lengan terlihat
19	11,75	4,2	Somites 29-31 (lower lumbar); muncul lengkung visceral ke-1 sampai 4, adanya lipatan cervical, lipatan apendikularis
20	11,875	5	Somites 32-33 (upper sacral)
21	12	5,1	Somites 34-35 (lower sacral); terbentuk sinus cervical dalam
22	12,125	5,2	Somites 36 (1st caudal); terbentuknya lubang hidung
23	12,25	5,6	Somites 37-38 (caudal); awal herniasi umbilikal
24	12,375	6	Somites 39-40 (caudal)
Embrio Lengkap			
25	12,5	6,2	Somites 41-42 (caudal); penyebaran oksipital somites; lengkungan visceral ke-4 jelas; tunas lengan pada tingkat somites 8-14 sama panjang dengan tunas kaki di tingkat somites 28-31, namun lebih kecil; wajah kiri berada pada kantung kuning, sedangkan sisi kanan berbalik ke arah plasenta; ekor dan tangkai alantois terangkat ke arah plasenta
Kuncup Ekor Embrio			
18	11,5	3,8	Somites 26-28 (upper lumbar), terbentuk lengkung visceral ke-3; kuncup lengan terlihat
19	11,75	4,2	Somites 29-31 (lower lumbar); muncul lengkung visceral ke-1 sampai 4, adanya lipatan cervical, lipatan apendikularis
20	11,875	5	Somites 32-33 (upper sacral)
21	12	5,1	Somites 34-35 (lower sacral); terbentuk sinus cervical dalam
22	12,125	5,2	Somites 36 (1st caudal); terbentuknya lubang hidung
23	12,25	5,6	Somites 37-38 (caudal); awal herniasi umbilikal
24	12,375	6	Somites 39-40 (caudal)
Embrio Lengkap			
25	12,5	6,2	Somites 41-42 (caudal); penyebaran oksipital somites; lengkungan visceral ke-4 jelas; tunas lengan pada tingkat somites 8-14 sama panjang dengan tunas kaki di tingkat somites 28-31, namun lebih kecil; wajah kiri berada pada kantung kuning, sedangkan sisi kanan berbalik ke arah plasenta; ekor dan tangkai alantois terangkat ke arah plasenta

Tabel 2 (Lanjutan).

Standar Tahapan (Witschi)	Usia (hari)	Ukuran (mm)	Identifikasi Tahapan
Janin			
34	17-18	16-20	Tahap janin ke-1; pertumbuhan cepat kelopak mata (mata tertutup sepenuhnya sampai akhir hari ke-18); langit-langit tertutup sempurna; pinna melapisi saluran telinga; hernia umbilikal menghilang
35 Antenatal	19-22	20-40	Tahap janin ke-2; kelopak mata tertutup; membran janin dan plasenta mencapai puncak pertumbuhan; ekor tumbuh hingga 10mm
35 Postnatal	1-16 Postpartum	4-10 ¹	Kelahiran terjadi (tikus dalam 22 hari, mencit dalam 19 hari) Setelah lahir, janin bernapas dan menyusu pada ibunya selama 16 hari pertama, kelopak mata tetap tertutup dan saluran telinga eksternal tertutup dengan sekat periderm
36 Postnatal	17 + Postpartum	100+ ¹	Sekat periderm telinga dan kelopak mata lenyap; makan aktif dimulai dalam waktu berikutnya 3 hari dan menyapihnya setelah 1 minggu (total usia penyapihan, 45-48 hari untuk tikus dan mencit)

***Umur (hari)** – hari setelah pembuahan

***Ukuran (mm)** – terbesar dan terkecil dimensi

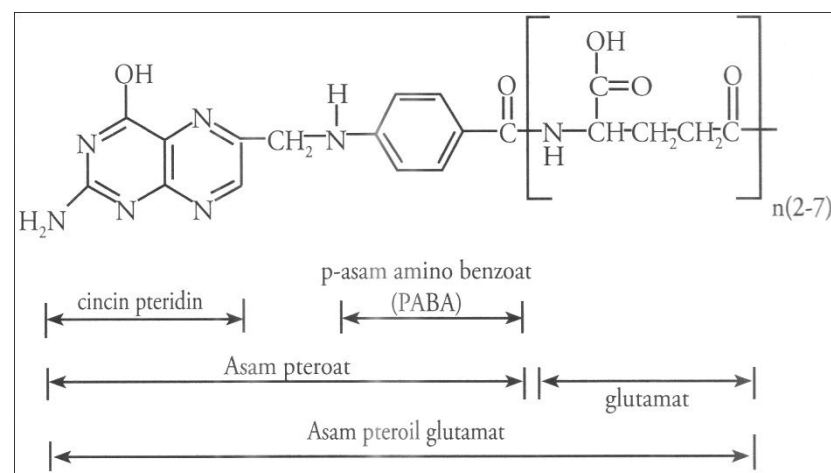
2.4. Asam Folat

2.4.1. Definisi

Folat merupakan nama umum dari asam pteroilmonoglutamat dan senyawa turunannya (Mahan & Escott-Stump, 2004). Folat ditemukan pada 1937 oleh dr. Wills dalam penelitiannya untuk mengatasi anemia pada wanita hamil. Penamaan folat sesuai dengan sumber yang pertama kali dapat diisolasi untuk mendapatkan senyawa folat yaitu bayam dan sayuran berdaun hijau lainnya (*foliage*) (Grosvenor & Smolin 2002; Insel *et al.*, 2014). Folat terdapat dalam 150 bentuk berbeda yang sebagian besar berada pada makanan

dalam bentuk mudah direduksi. Sebanyak 50% hingga 95% folat bisa hilang karena pemasakan dan pengolahan. Sayuran yang disimpan dalam suhu ruangan akan banyak kehilangan kandungan folatnya (Almatsier, 2002).

Folat dalam bentuk aktifnya tersusun atas cincin pteridin terkait dengan p-asam amino benzoat (p-aminobenzoic acid/PABA) yang bersama membentuk asam pteroat dan asam glutamate. Istilah asam folat menyatakan pteroil glutamat (PteGlu), yaitu bentuk monoglutamil vitamin tersebut. Asam folat merupakan bentuk turunan paling stabil dan merupakan bentuk yang digunakan dalam suplementasi ataupun fortifikasi (Almatsier, 2002; Insel *et al.*, 2014).



Gambar 5. Struktur Kimia Asam Folat (Almatsier, 2002)

2.4.2. Absorpsi, Metabolisme, dan Simpanan

Folat dalam makanan terdapat sebagai poliglutamat yang terlebih dulu harus dihidrolisis menjadi bentuk monoglutamat di dalam mukosa usus halus, sebelum ditransportasi secara aktif ke dalam sel usus halus. Pencernaan ini dilakukan oleh enzim hidrolase, sebagian besar dalam bentuk poliglutamat

tereduksi, dan absorpsi membutuhkan kerja pteroilglutamil karboksidase yang berkaitan dengan membran sel mukosa. Mukosa duodenum dan bagian atas jejunum kaya akan dihidrofolat reduktase dan dapat memetilasi sebagian besar atau semua folat tereduksi yang diabsorpsi. Setelah diabsorpsi, folat didalam sel kemudian diubah menjadi 5-metil-tetrahidrofolat dan dibawa ke hati melalui sirkulasi darah portal untuk disimpan (Brunton *et al.*, 2010; Almatsier, 2002).

Jumlah simpanan folat di dalam tubuh orang dewasa sehat diperkirakan sebanyak 7,5 mg. Hati merupakan tempat simpanan utama folat. Di dalam hati, asam metil tetrahidrofolat diubah menjadi asam tetrahidrofolat (THFA) dan gugus metil disumbangkan ke metionin. Tetrahidrofolat kemudian bereaksi dengan enzim poliglutamat sintase untk membentuk kembali poliglutamil folat yang kemudian berikatan dengan bermacam enzim dan membentuk kembali poliglutamil folat yang kemudian berikatan dengan bermacam enzim dan melakukan sebagian besar fungsi metabolik vitamin tersebut. Folat yang dihidrolisis meninggalkan hati dan bersirkulasi di sel darah merah. Folat dikeluarkan melalui feses dan urin sebagai 5-metil-tetrahidrofolat. Setelah diambil dan digunakan oleh sumsum tulang, folat bersirkulasi sebagai poliglutamat di dalam simpanan sel darah merah (Almatsier, 2002).

Folat dikeluarkan melalui feses dan urin sebagai 5-metil-tetrahirofolat. Jumlah folat yang dikeluarkan tiap hari hampir sama dengan jumlah yang terdapat dalam simpanan tubuh, yang umurnya adalah 100 hari. Persediaan folat habis dalam waktu dua puluh hari (Almatsier, 2002).

2.5. Kebutuhan Asam Folat Dalam Masa Kehamilan

Tubuh menyerap hampir 100% asam folat pada suplemen dan makanan terfortifikasi, tetapi hanya menyerap sekitar setengah sampai dua pertiga dari folat yang ada secara alami dalam makanan. Nilai folat yang direkomendasikan untuk pria dan wanita usia 19 tahun keatas adalah 400 µg/hari (Insel *et al.*, 2014).

Kebutuhan asupan folat pada wanita hamil meningkat 5-10 kali lipat dibandingkan wanita yang tidak hamil (Fekete *et al.*, 2012). Oleh karena itu, wanita yang merencanakan hamil direkomendasikan untuk mengkonsumsi 400 µg/hari dari suplemen atau makanan terfortifikasi sebagai tambahan dari konsumsi berbagai mengandung folat secara alami. Kebutuhan asam folat untuk wanita hamil meningkat menjadi 600 µg/hari dan untuk wanita menyusui sebesar 500 µg/hari (Grosvenor & Smolin, 2002; Insel *et al.*, 2014).

2.6. Pengaruh Pemberian Asam Folat Pada Fetus

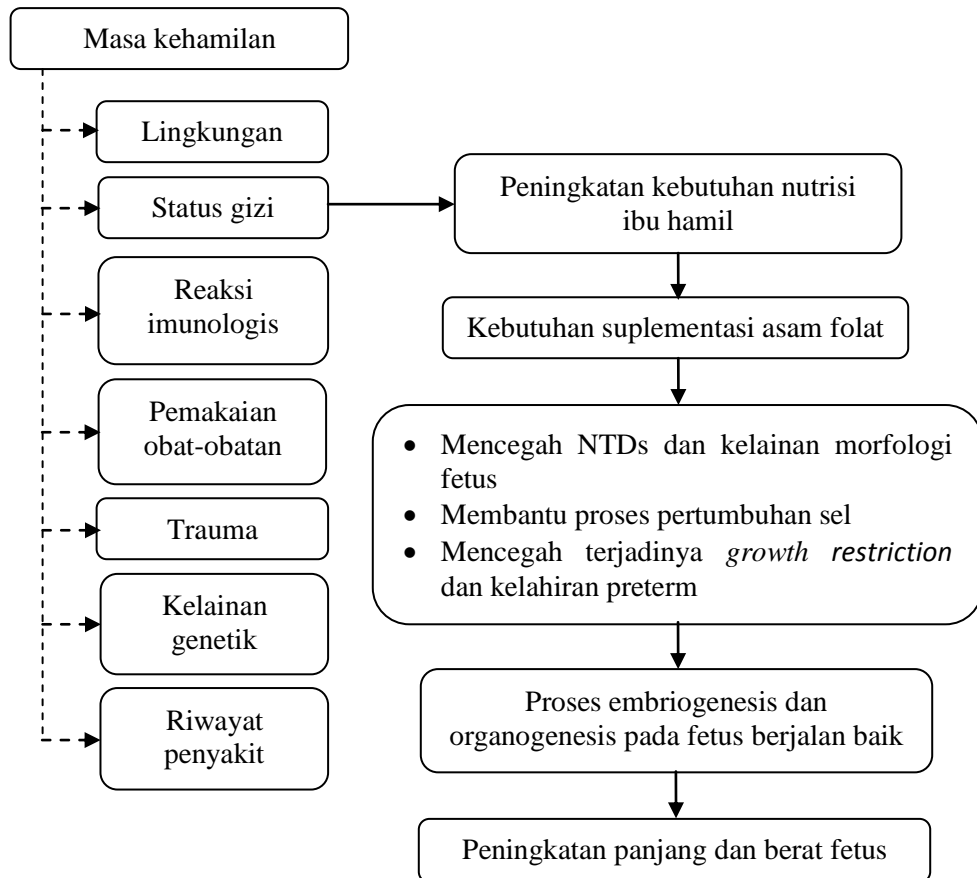
Asam folat berperan dalam metabolisme satu unit-karbon untuk sintesis DNA dan pembelahan sel, regulasi dari ekspresi gen, metabolisme asam amino, dan sintesis neurotransmitter (Fekete *et al.*, 2012). Peran folat dalam sintesis DNA dan pembelahan sel tersebut sangat berpengaruh dalam proses pertumbuhan sel, termasuk pada embrio, sumsum tulang (Grosvenor & Smolin, 2002). Rekomendasi pemberian folat untuk maternal sebelum dan pada awal kehamilan memiliki fokus utama untuk mencegah *Neural Tube Defects* (NTDs) (McNulty *et al.*, 2013). Namun, asupan folat yang adekuat tidak hanya dibutuhkan pada masa perikonseptual, tetapi juga selama masa kehamilan untuk mencapai keluaran kehamilan yang memuaskan (Tamura & Picciano, 2006).

Defisiensi folat akan menghambat sintesis asam nukleat diikuti dengan ketidakmampuan sel untuk memfasilitasi proses replikasi DNA. Hal tersebut dapat menyebabkan adanya gangguan fertilitas pada maternal dan proses embriogenesis pada fetus. Terdapat korelasi positif antara defisiensi asam folat dengan kurangnya kadar *growth factor* TGF- β 1 dan IGF-I yang juga berperan dalam embriogenesis dan organogenesis. Defisiensi asam folat juga menyebabkan apoptosis dan nekrosis pada sel-sel tulang induk dan fetus tikus terjadi lebih banyak (Istiadjid, 2004).

Suplementasi asam folat pada penelitian hewan coba memberikan efek penurunan insidensi kelahiran preterm, kematian fetus, dan pencegahan terhadap IUGR pada hewan coba yang diinduksi lipopolisakarida (Zhao *et al.*, 2013). Pemberian suplementasi asam folat lanjutan pada ibu hamil trimester kedua, terutama trimester ketiga menghasilkan bayi dengan berat yang lebih dibandingkan kelompok ibu yang tidak diberikan asam folat (Czeizel A. E. *et al.*, 2010). Asam folat mempengaruhi metabolisme homosistein bersama dengan vitamin B₁₂ dan B₆, yang menjadikan vitamin-vitamin tersebut sangat diperlukan dalam pertumbuhan fetus. Studi di Jepang menyatakan semakin tinggi kadar homosistein dalam plasma pada trimester ketiga kehamilan merupakan prediktor dari berat lahir rendah (Takimoto *et al.*, 2007).

2.7. Kerangka Penelitian

2.7.1. Kerangka Teori



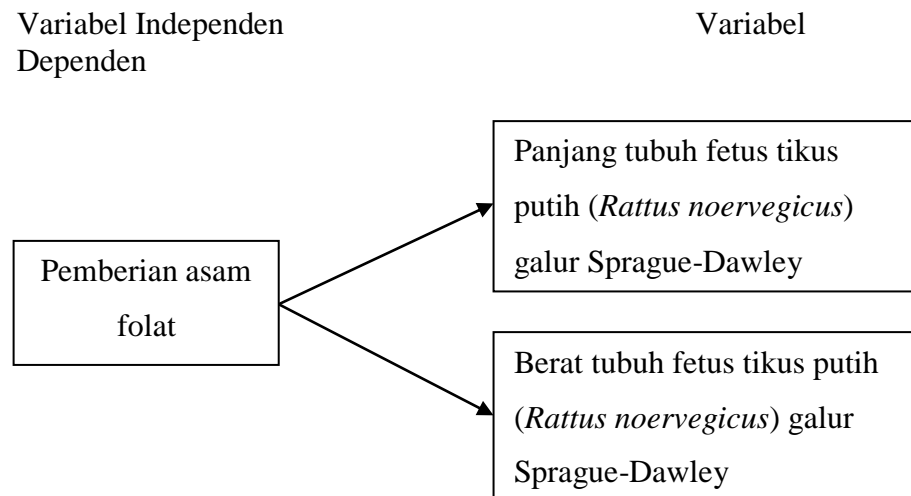
Gambar 6. Kerangka Teori (Cunningham *et al.*, 2012; Czeizel A. E. *et al.*, 2010; Grosvenor & Smolin, 2002; Istiadjid, 2004; McNulty *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2013)

Keterangan:

-----> : Dipengaruhi oleh

————> : Menyebabkan

2.7.1. Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka Konsep

2.8. Hipotesis

Hipotesis alternatif dari penelitian ini antara lain sebagai berikut.

- a. Terdapat perbedaan panjang tubuh fetus tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley yang diberi asam folat pada periode pemberian yang berbeda.
- b. Terdapat perbedaan berat tubuh fetus tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley yang diberi asam folat pada periode pemberian yang berbeda.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian analisis kuantitatif. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni.

3.2. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di *Animal House* dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama 3 bulan, yakni terhitung mulai pada bulan Agustus hingga Oktober 2016.

3.3. Subjek Penelitian

3.3.1. Populasi Penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah tikus putih *Rattus norvegicus* galur Sprague-Dawley betina berusia 10-16 minggu dengan berat 200-250 gram yang hamil. Tikus tersebut diperoleh dari Balai Penelitian Veteriner (BALITVET) Palembang.

3.3.1.1. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi dari populasi penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Jenis kelamin betina dan hamil.

- b. Sehat (gerak aktif, rambut tidak kusam, rontok, atau botak).
- c. Memiliki berat badan 200-250 gram
- d. Berusia sekitar 10-16 minggu (dewasa siap kawin).

3.3.1.2. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi dari populasi penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Tikus mati sebelum mendapat perlakuan.
- b. Terdapat penurunan badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium.

3.3.2. Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina hamil yang memenuhi kriteria populasi.

3.3.2.1. Besar Sampel

Pada uji eksperimental rancangan acak lengkap, besar sampel penelitian yang digunakan ditentukan dengan menggunakan rumus Federer.

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

Dengan (t) adalah jumlah kelompok perlakuan dan (n) adalah jumlah ulangan pada masing-masing kelompok. Perhitungan jumlah sampel untuk setiap kelompok adalah sebagai berikut.

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

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$5n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \approx 5$$

Dari perhitungan di atas, dibutuhkan sampel minimal sebanyak 5 ekor tikus tiap kelompok. Oleh karena itu, sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini berjumlah 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley betina yang hamil dan terbagi dalam 5 kelompok.

3.3.2.2. Teknik Sampling

Penempatan tikus pada tiap kelompok perlakuan pada penelitian ini menggunakan metode acak (*Simple Random Sampling*).

3.4. Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni dengan rancangan *Post Test Only Group Control Design* (Notoadmodjo, 2015). Penelitian ini merupakan penelitian komparatif yang bertujuan untuk melihat perbedaan keluaran kehamilan berupa nilai panjang dan berat tubuh fetus tikus pada setiap kelompok dengan periode pemberian asam folat yang berbeda.

Sampel berjumlah 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley betina yang hamil. Sampel tersebut dibagi menjadi 5 kelompok dengan 5 ekor tikus di setiap kelompoknya. Pembagian kelompok berdasarkan perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut.

- a. Kelompok kontrol negatif (KN): tikus betina hamil diberi akuades 1 ml dengan frekuensi satu kali sehari selama 21 hari masa kehamilan secara peroral dengan menggunakan sonde lambung.
- b. Kelompok kontrol positif (KP): tikus betina hamil diberi asam folat dosis 62 $\mu\text{g}/\text{KgBB}$ tikus dalam 1 ml akuades dengan frekuensi satu kali sehari selama 21 hari masa kehamilan secara peroral dengan menggunakan sonde lambung.
- c. Kelompok perlakuan 1 (P1): tikus betina hamil diberi asam folat dosis 62 $\mu\text{g}/\text{KgBB}$ tikus dalam 1 ml akuades dengan frekuensi satu kali sehari selama 7 hari pertama masa kehamilan secara peroral dengan menggunakan sonde lambung.
- d. Kelompok perlakuan 2 (P2): tikus betina hamil diberi asam folat dosis 62 $\mu\text{g}/\text{KgBB}$ tikus dalam 1 ml akuades dengan frekuensi satu kali sehari selama 7 hari kedua masa kehamilan secara peroral dengan menggunakan sonde lambung.
- e. Kelompok perlakuan 3 (P3): tikus betina hamil diberi asam folat dosis 62 $\mu\text{g}/\text{KgBB}$ tikus dalam 1 ml akuades dengan frekuensi satu kali sehari selama 7 hari terakhir masa kehamilan secara peroral dengan menggunakan sonde lambung.

3.5. Identifikasi Variabel Penelitian

3.5.1. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai ukur panjang dan berat tubuh fetus tikus.

3.5.2. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah periode pemberian asam folat pada masa kehamilan tikus.

3.6. Definisi Operasional Variabel Penelitian

Untuk memudahkan pelaksanaan kegiatan penelitian dan penelitian tidak meluas maka dibuat definisi operasional pada tabel 3.

Tabel 3. Definisi Operasional Variabel.

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
Periode pemberian asam folat pada masa kehamilan tikus	<p>Periode pemberian asam folat yang diharapkan dapat memengaruhi nilai panjang dan berat tikus fetus tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) galur Sprague-Dawley, dengan kelompok perlakuan sebagai berikut:</p> <p>a. Kelompok kontrol negatif (KN): tikus betina hamil diberi akuades 1 ml dengan frekuensi satu kali sehari selama 21 hari masa kehamilan secara peroral.</p> <p>b. Kelompok kontrol positif (KP): tikus betina hamil diberi asam folat dosis 62 µg/KgBB tikus dalam 1 ml akuades dengan frekuensi satu kali sehari selama 21 hari masa kehamilan secara peroral.</p> <p>c. Kelompok perlakuan 1 (P1): tikus betina hamil diberi asam folat dosis 62 µg/KgBB tikus dalam 1 ml akuades dengan frekuensi satu kali sehari selama 7 hari pertama masa kehamilan secara peroral.</p> <p>d. Kelompok perlakuan 2 (P2): tikus betina hamil diberi asam folat dosis 62 µg/KgBB tikus dalam 1 ml akuades dengan frekuensi satu kali sehari selama 7 hari kedua masa kehamilan secara peroral.</p> <p>e. Kelompok perlakuan 3 (P3): tikus betina hamil diberi asam folat dosis 62 µg/KgBB tikus dalam 1 ml akuades dengan frekuensi satu kali sehari selama 7 hari terakhir masa kehamilan secara peroral.</p>	Menghitung periode trimester kehamilan induk tikus	Trimester pemberian asam folat dalam hari	Kategorik
Panjang tubuh fetus tikus	Panjang tubuh fetus didapatkan dengan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,01 cm. Teknik pengukuran dari ujung kepala (<i>Vertex</i>) sampai ujung ruas tulang belakang/bokong, kemudian hasil yang didapatkan dicatat.	Menghitung rata-rata panjang tubuh fetus tikus pada setiap induk dalam kelompok perlakuan	Panjang tubuh fetus dalam satuan centimeter	Rasio
Berat tubuh fetus tikus putih	Berat tubuh fetus ditimbang dengan menggunakan timbangan <i>Mettler Toledo</i> dengan ketelitian 0,01 gram, kemudian hasil yang didapatkan dicatat.	Menghitung rata-rata berat tubuh fetus tikus pada setiap induk dalam kelompok perlakuan	Berat tubuh fetus dalam satuan gram	Rasio

3.7. Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1. Alat Penelitian

3.7.1.1. Alat Dalam Penelitian

Alat yang digunakan berupa tempat minum dan makan tikus, mikroskop, spuit oral 1 cc, kandang tikus yang terdiri dari bak plastik yang ditutupi dengan kawat pada bagian atasnya sebanyak 30 kandang, gelas objek, gelas penutup, jangka sorong, dan neraca analitik *Metler Toledo* dengan tingkat ketelitian 0,01 g, dan kapas.

3.7.1.2. Alat Dalam Proses Nekropsi

Adapun alat yang digunakan dalam proses nekropsi yaitu: (1) *fume hood* digunakan untuk melindungi operator dari bahan pengawet atau material yang bisa terisap dari hewan coba (bulu dan debu); (2) *dissecting board* (papan bedah); (3) *bank pins* (jarum) digunakan untuk membuat posisi hewan coba stabil atau tidak berpindah posisi sehingga operator menjadi mudah; (4) *forceps* digunakan untuk memegang organ dalam untuk memeriksa dan gunting yang digunakan untuk membuat insisi atau sayatan pada otot; (5) larutan garam (NaCl 4,25 gr dalam 500 ml air) digunakan untuk mencuci atau menghilangkan darah dan debris jaringan dari fetus tikus; (6) neraca analitik *Metler Toledo* dengan tingkat ketelitian 0,01 g, untuk menimbang berat tikus dan fetus tikus; (7) baju kerja laboratorium; (8) sarung tangan (*disposable glove*).

3.7.2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain sebagai berikut.

- a. Bahan Biologis: Tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina hamil galur Sprague-Dawley dengan berat 200-250 gram.
- b. Bahan Kimia: Asam Folat dengan sediaan 400 µg/tablet dikonversikan ke dosis tikus putih menjadi 62 µg/KgBB tikus, ketamine untuk eutanasi tikus hamil, etanol, larutan garam (NaCl 4,25 gram dalam 500 ml air) untuk pembersihan, dan akuades.

3.8. Cara Kerja

3.8.1. Prosedur Pemilihan Hewan Uji

Calon induk tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley dipilih dengan berat sekitar 200-250 gram dan umur 10-16 minggu. Tikus bertina dikawinkan dengan tikus jantan pada saat fase estrus dengan sistem pasangan poligami (tiga ekor betina dengan seekor jantan) dan ditinggal semalaman. Apusan vagina dapat dilakukan pada keesokan paginya. Apusan akan mengandung sejumlah sperma jika kopulasi telah terjadi. Selain itu, kopulasi dapat dipastikan dengan adanya sumbat vagina untuk memastikan waktu perkawinan. Sumbat ini berupa air mani yang menjendal berwarna kekuningan berasal dari sekresi kelenjar khusus tikus jantan dan sebagai penetapan hari awal kehamilan.

3.8.2. Prosedur Pemeliharaan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina dewasa galur Sprague-Dawley umur 10-16 minggu dengan berat 200-250 gram dan sehat. Dasar kandang dilapisi dengan serbuk kayu setebal 0,5-1 cm dan diganti setiap hari untuk mencegah infeksi yang dapat terjadi akibat kotoran tikus tersebut. Setiap ekor tikus betina yang hamil ditempatkan dalam satu kandang. Cahaya, suhu, dan kelembaban ruangan dibiarkan berada dalam kisaran alamiah.

Kandang ditempatkan dalam suhu kamar dan menggunakan cahaya matahari tidak langsung. Makanan hewan percobaan diberikan berupa pelet ayam. Makanan dan minuman diberikan secukupnya dalam wadah terpisah dan diganti setiap hari. Setiap tikus diberi perlakuan sekali sehari yang dilakukan pada masing-masing waktu trimester kehamilan yang sudah ditetapkan.

3.8.3. Prosedur Pemberian Dosis Asam Folat

Zat yang digunakan berupa asam folat dengan sediaan tablet. Dosis yang diberikan pada hewan coba berasal dari konversi BSA (*Body Surface Area*) dosis asam folat pada wanita hamil (600 µg) menjadi dosis hewan coba, perhitungan seperti di bawah ini (Reagan-Shaw *et al.* 2007).

$$\text{HED (mg/Kg)} = \text{dosis hewan coba} \times \frac{Km \text{ hewan coba}}{Km \text{ manusia}}$$

HED (*Human Equivalent Dose*) merupakan dosis pada manusia dengan satuan mg/KgBB. Dosis asam folat dikonversi dalam bentuk mg/KgBB. Berat badan yang digunakan sebagai pembagi merupakan berat badan rata-rata manusia yang digunakan dalam konversi HED, yaitu 57,7 Kg

(Walpole *et al.*, 2012). HED didapatkan dari dosis asam folat dibagi dengan berat badan rata-rata sehingga jumlah HED asam folat sebesar 0,01 mg/KgBB.

Rumus konversi menggunakan suatu faktor konstanta (Km). Faktor Km merupakan hasil berat badan (Kg) dibagi dengan BSA dalam satuan m^2 . Setiap makhluk hidup memiliki faktor Km yang berbeda. Nilai faktor Km manusia dewasa normal dan hewan coba (tikus) sebesar 37 dan 6. Sehingga didapat dosis hewan coba sebesar:

$$\text{Dosis hewan coba} = \text{HED (mg/Kg)} \times \frac{Km \text{ hewan coba}}{Km \text{ manusia}}$$

$$\text{Dosis hewan coba} = 0,01 \text{ mg/KgBB} \times \frac{37}{6}$$

$$\text{Dosis hewan coba} = 0,062 \text{ mg/KgBB}$$

Dari perhitungan tersebut, dosis yang digunakan adalah 62 $\mu\text{g/KgBB}$ untuk setiap kali pemberian. Asumsi berat tubuh tikus rata-rata adalah 250 g (0,25 kg), maka dosis untuk setiap tikus adalah 0,0155 mg asam folat. Pemberian akan dilakukan secara peroral per tikus yang diberi perlakuan. Setiap tikus akan diberikan 1 ml larutan asam folat yang didalamnya mengandung 0,0155 mg asam folat.

Sediaan tablet asam folat tersedia dalam bentuk tablet 0,4 mg, 1 mg, dan 5 mg. Pada penelitian ini digunakan tablet asam folat sediaan 0,4 mg dengan pengenceran menggunakan akuades sebanyak 25,8 ml yang diperoleh dari perhitungan sebagai berikut.

$$V_1 \times M_2 = V_2 \times M_1$$

$$1 \text{ ml} \times 0,4 \text{ mg} = V_2 \times 0,0155 \text{ mg}$$

$$V_2 = \frac{0,4 \text{ mg} \times 1 \text{ ml}}{0,0155 \text{ mg}}$$

$$V_2 = 25,8 \text{ ml}$$

Keterangan:

V_1 = volume larutan yang diharapkan

V_2 = volume cairan pengencer (akuades)

M_1 = masa obat yang diharapkan dalam larutan

M_2 = masa obat yang diencerkan

3.8.4. Prosedur Pembedahan

Tikus dinarkosis atau dieutanasi dengan ketamine pada hari ke-21 kehamilan, untuk mencegah kanibalisasi induk terhadap fetus pasca melahirkan. Nekropsi dilakukan dengan laparatomi di bagian perut dan uterus tempat fetus dibedah.

Adapun metode nekropsi hewan uji coba laboratorium yaitu:

- a. Hewan telah dieutanasi.
- b. Hewan diletakkan pada papan nekropsi dengan posisi rebah dorsal (perut menghadap ke atas) dan posisi kepala hewan menjauhi operator.
- c. Permukaan tubuh hewan dibasahi dengan air atau etanol supaya bulu hewan tidak rontok dan mengotori organ atau fetus yang akan diambil.
- d. Dengan menggunakan *forceps* angkat kulit abdomen dan buat irisan sepanjang *ventral midline* dengan gunting (sampai dagu bawah). Irisan hanya pada daerah subkutan.

- e. Setelah terlihat otot di bawah kulit (berupa lapisan tipis otot), dibuat irisan pada otot abdomen, selanjutnya singkirkan otot ke samping dengan cara memotong dengan gunting sehingga organ dalam abdomen dapat diamati.
- f. Tentukan letak uterus dengan fetus yang ada di dalamnya, tarik sedikit ke arah luar, kemudian mengeluarkan fetus dari uterus tikus.
- g. Bersihkan fetus dari lendir sisa selaput dan darah yang ada dengan larutan NaCl (4,25 gr NaCl dalam 500 ml air).

3.8.5. Prosedur Pengukuran Panjang Tubuh Fetus Tikus

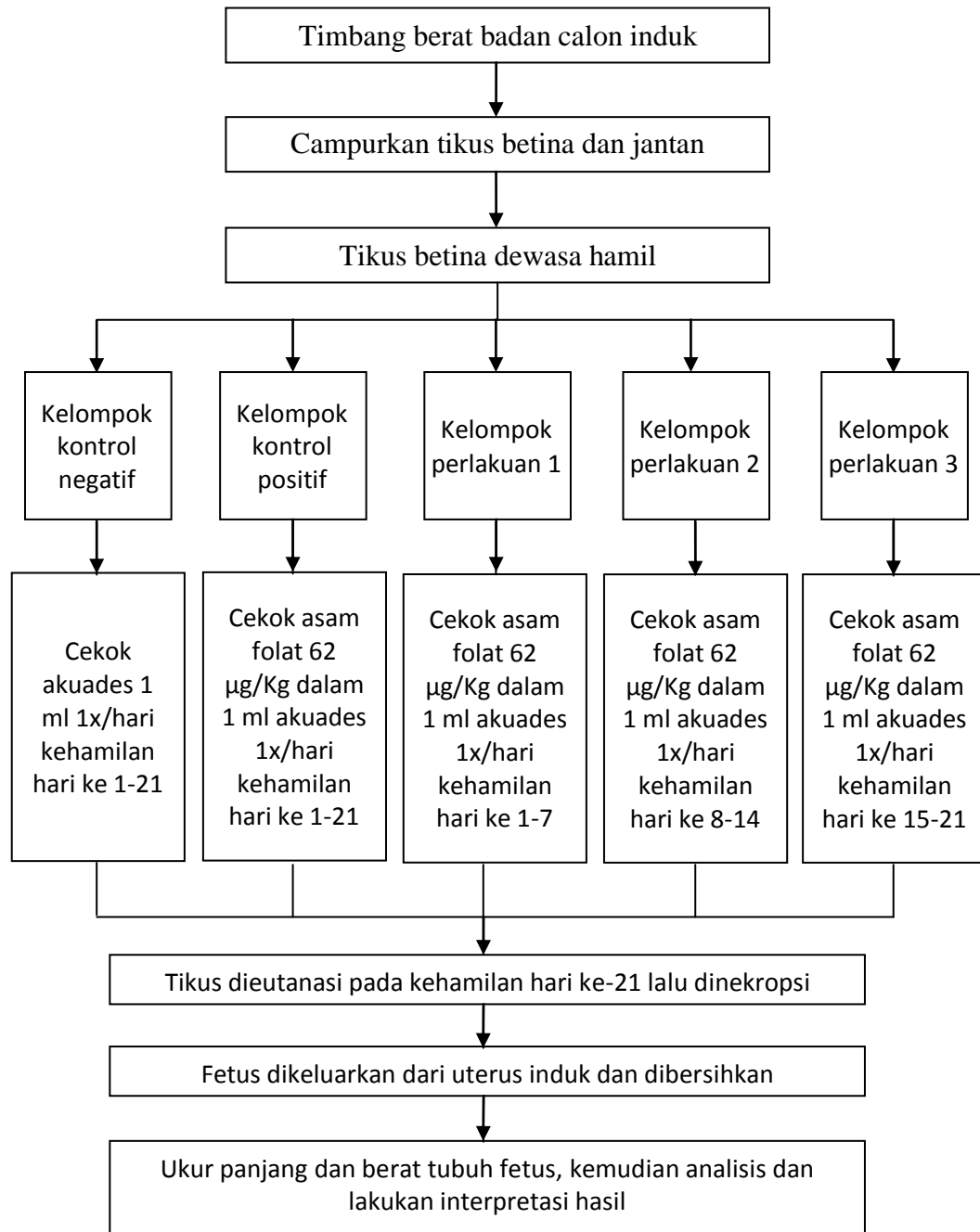
Pengukuran panjang tubuh fetus tikus putih dilakukan pada setiap kelompok perlakuan dengan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,01 cm. Pengamatan panjang diukur dari ujung kepala (*Vertex*) sampai ujung ruas tulang belakang/bokong, kemudian hasil dicatat untuk setiap fetus pada tiap kelompok.

3.8.6. Prosedur Pengukuran Berat Tubuh Fetus Tikus

Berat tubuh fetus ditimbang dengan menggunakan timbangan *Mettler Toledo* dengan ketelitian 0,01 gram. Pengamatan berat tubuh fetus dilakukan kemudian hasil yang didapat dicatat untuk setiap fetus pada tiap kelompok.

3.9. Diagram Alur Penelitian

Pada penelitian ini akan menggunakan tikus putih sebanyak 25 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok sebagai sampel. Tikus putih diaklimatisasi dan diberi perlakuan sesuai prosedur penelitian yang sudah dijelaskan setelah itu diterminasi dan diambil fetusnya. Berikut diagram alur penelitian dijelaskan pada gambar 8.



Gambar 8. Diagram Alur Penelitian.

3.10. Teknik Analisis Data

Kelompok penelitian terdiri dari lima kelompok yaitu tiga kelompok perlakuan dan dua kelompok kontrol. Pada tiap kelompok, data yang terkumpul dianalisis menggunakan *software* komputer. Analisis statistik pada penelitian ini menggunakan analisis bivariat. Analisis bivariat dilakukan untuk menilai tingkat perbedaan antara variabel independen dan dependen. Distribusi data dianalisis dengan metode Saphiro-Wilk karena sampel data berjumlah kurang dari sama dengan 50. Distribusi data normal dan homogen, maka digunakan uji parametrik *One Way Anova*.

Batas derajat kemaknaan pada uji *One Way Anova* $p \leq 0,05$ (hipotesis dianggap bermakna). Didapatkan hasil $p \leq 0,05$ maka dilanjutkan dengan analisis *post-hoc* LSD untuk menilai kebermaknaan antar kelompok.

3.11. Etika Penelitian

Penelitian ini dinyatakan lolos kaji etik berdasarkan surat pernyataan *ethical clearance* dengan nomor 456/UN26.8/DL/2017. Surat pernyataan *ethical clearance* untuk penelitian ini diperoleh setelah mengajukan *ethical approval* kepada Komisi Etika Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5,1 Simpulan

Melalui penelitian ini didapatkan simpulan yaitu terdapat perbedaan panjang dan berat tubuh fetus tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley pada pemberian asam folat pada berbagai periode pemberian.

5.2 Saran

Adapun saran yang peneliti sampaikan dari penelitian ini sebagai berikut.

1. Peneliti lain disarankan untuk mencoba cara lain memberikan asam folat untuk mengontrol peran tingkat stres psikologis pada tikus saat dilakukannya pemberian asam folat.
2. Peneliti lain disarankan untuk menggunakan *trigger* seperti alkohol sebagai penghambat pertumbuhan dan perkembangan fetus tikus bersama pemberian asam folat selama kehamilan induk tikus. Sehingga dapat diketahui juga fungsi dari asam folat dalam mencegah kejadian IUGR dan memperoleh panjang dan berat tubuh fetus yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriaansz G, Hanifah TM. 2014. Diagnosis Kehamilan. Dalam: A. B. Saifuddin, T. Rachimhadhi dan G. H. Wiknjosastro. *Ilmu Kebidanan Sarwono Prawirohardjo*. Jakarta: PT Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo, hlm. 213.
- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press.
- Almatsier S. 2002. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Altman PL, Katz DD. 2012. *Growth Including Reproduction and Morphological Development*. Washington DC: Literary Licensing.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. 2013. ACOG Committee Opinion No. 579: Definition of Term Pregnancy. *Obstet Gynecol*, 122(5), hlm.1139–1140.
- Sharp P, Villano J. 2013. *The Laboratory Rat*. Second edition. Boca Raton: CRC Press
- Bassat Q et al. 2016. Mother and Child Nutrition In The Tropics And Subtropics: Nutrition in Pregnancy and Growth of the Foetus. *Oxford Journal of Tropical Pediatrics*, 13(4):93-124
- Brunton L et al. 2010. *Goodman & Gilman: Manual Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Brunton PJ. 2013. Effects of maternal exposure to social stress during pregnancy: Consequences for mother and offspring. *Reproduction*, 146(5).

- Czeizel AE *et al.* 2010. Possible association of folic acid supplementation during pregnancy with reduction of preterm birth: a population-based study. *European Journal Obstetric Gynecology Reproduction Biology*, 148(2):135–140.
- Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Haug JC, Rouse DJ. 2012. *Obstetri williams*. Edisi ke-23. Jakarta: EGC.
- Fekete K *et al.* 2012. Effect of folate intake on health outcomes in pregnancy: a systematic review and meta-analysis on birth weight, placental weight and length of gestation. *Nutrition Journal*, 11(1):75.
- Furness D *et al.* 2013. Folate, Vitamin B12, Vitamin B6 and homocysteine: impact on pregnancy outcome. *Maternal & Child Nutrition*, 9(2):155–166.
- Grosvenor MB, Smolin LA. 2002. *Nutrition: From Science to Life*. Edisi ke-1. Orlando: Barrose, Emily.
- Insel P *et al.* 2014. *Nutrition*. Edisi ke-5. Burlington: Jones & Barlett Learning.
- Istiadjid M. 2004. Pengaruh defisiensi folat terhadap fertilitas induk dan kualitas janin tikus. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, XX(10):7–11.
- Janssen AB *et al.* 2016. Maternal prenatal depression is associated with decreased placental expression of the imprinted gene PEG3. *Psychological medicine*, hlm.1–13.
- Janvier Labs. 2013. Research Model: Sprague Dawley Rat [Online]. Tersedia di: <http://www.janvier-labs.com/rodent-research-models-services/research-models/per-species/outbred-rats/product/sprague-dawley.html> [Diakses: 12 Mei 2016].
- Krinke GJ. 2000. *The Handbook of Experimental Animals: The Laboratory Rat*. London: Academic Press.
- Lausman A *et al.* 2013. Intrauterine growth restriction: screening, diagnosis, and management. *J Obstet Gynaecol Can*, 35(8):741–757.

- Lindblad B *et al.* 2005. Folate, vitamin B12, and homocysteine levels in South Asian women with growth-retarded fetuses. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 84(11):1055–1061.
- Mahan LK, Escott-Stump S. 2004. *Krause's Food, Nutrition & Diet Therapy*. Edisi ke-11. Philadelphia: Saunders.
- Malole MBM, Pramono SU. 1999. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB.
- McNulty B *et al.* 2013. Impact of continuing folic acid after the first trimester of pregnancy: Findings of a randomized trial of folic acid supplementation in the second and third trimesters. *American Journal of Clinical Nutrition*, 98(1):92–98.
- Notoatmodjo S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Yogyakarta: Rineka Cipta.
- Paszkowski M *et al.* 2015. Selected non-somatic risk factors for pregnancy loss in patients with abnormal early pregnancy. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 23(1):153–156.
- Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. 2007. Dose translation from animal to human studies revisited. *The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 22(3):659–661.
- Sadler TW. 2012. *Langman's medical embryology*. Edisi ke-12. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S. 1998. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Sukra Y. 2000. *Wawasan Ilmu Pengetahuan Embrio Benih Masa Depan*. Jakarta: Direktorat Jendral pendidikan tinggi Departemen Pendidikan Nasional.
- Takimoto H *et al.* 2007. Relationship between dietary folate intakes, maternal plasma total homocysteine and B-vitamins during pregnancy and fetal growth in Japan. *European Journal of Nutrition*, 46(5):300–306.

Tamura T, Picciano MF. 2006. Folate and human reproduction. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83:993–1016.

Walpole SC *et al.*, 2012. The weight of nations: an estimation of adult human biomass. *BMC public health*, 12(1):439.

Zerfu TA, Ayele HT. 2013. Micronutrients and pregnancy; effect of supplementation on pregnancy and pregnancy outcomes: a systematic review. *Nutrition journal*, 12(1):20.

Zhao M *et al.* 2013. Folic acid protects against lipopolysaccharide-induced preterm delivery and intrauterine growth restriction through its anti-inflammatory effect in mice. *PloS one*, 8(12).