

**HUBUNGAN KADAR ASAM FOLAT DENGAN HOMOSISTEIN
PLASMA PADA PREEKLAMPSIA DAN KEHAMILAN NORMAL**

TESIS



OLEH

INKE MALAHAYATI

BP. 1220342046

**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ANDALAS
2015**

LEMBAR PERSYARATAN

**HUBUNGAN KADAR ASAM FOLAT DENGAN HOMOSISTEIN
PLASMA PADA PREEKLAMPSIA DAN KEHAMILAN NORMAL**

TESIS

Sebagai salah satu syarat
untuk mendapatkan gelar Magister Kebidanan
pada Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran
Universitas Andalas

Oleh

**INKE MALAHAYATI
BP. 1220342046**

**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ANDALAS
2015**

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Hubungan Kadar Asam Folat dengan Homosistein
Plasma pada Preeklampsia dan Kehamilan Normal
Nama Mahasiswa : Iker Maharyati
Nomor BP : 1220342046
Program Studi : S-2 Kebidanan

Tesis ini telah dibaca dan dipertahankan di hadapan Pembimbing dan Tim Pengaji Ujian Akhir Program Pascasarjana Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang dan dinyatakan Lulus pada tanggal 24 Juli 2015

Menyetujui :

Kemisi Pembimbing


Dr. dr. Yusrinati Nurwati, SpOG(K)
Ketua


Prof. Dr. dr. Arifin Salsaria, PhD, SpOG
Anggota

Mengetahui

Ketua Program Studi S-2 Kebidanan

Dekan Fakultas Kedokteran


Dr. dr. Yusrinati, SpOG(K)
NIP.19650624 199203 2001



Dr. dr. Muzni, MSc, SpGK
NIP.19561226 198710 1003


PERNYATAN KEASLIAN PENELITIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa isi tesis yang saya tulis dengan judul :
**"Hubungan Kadar Asam Folat dengan Homosistein Plasma pada
Preeklampsia dan Kehamilan Normal"** adalah karya saya sendiri dan bukan merupakan jiplakan dari hasil karya orang lain kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar, maka status kelulusan dan gelar yang saya peroleh menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, Juli 2015
Perbuat Pernyataan,



Ike Mahayati
BP. 1220342046

	No Akademi Nasional	Nama Mahasiswa	No Akademi Fakultas
	a) Tahun/Tanggal lahir : Perunggahan, 10 Mei 1976, b) Nomor surat izin : 09460, c) Program Studi : S-1 Kebidanan, d) Fakultas Kesehatan Paramedika, e) No. SP : 1283/084, f) Tanggal lahir : 24 Juli 2013, g) Fakultas Ilmu Kesehatan, h) IPK : 5,99 i) Lantai Studi : 2,3 Tahun, j) Alamat : s. Jawa Gede Arafat No.1 Kelurahan Sunda Perintis/Padalarang		

ABSTRAK

BEBAN DAN KADAR ASAM POLAT DENGAN HEMODINAMI PLASMA PADA PREKLAMPSIA DAN KEHAMILAN NORMAL

Ibu Nisakayati

Diteliti sebagai salah satu bentuk penelitian prospektif. Penelitian berupa dalam keseluruhan variabel pada preklampsia. Diteliti akan bisa diprediksi perilaku dengan penelitian korelasional. Tujuan penelitian untuk mengetahui hubungan kadar asam laktat dengan hemodinami pada preklampsia dan kehamilan normal.

Desain penelitian adalah analitis prospektif dengan observasional terhadap 80 orang ibu hamil preklampsia dan kehamilan normal, usia 20-35 tahun di RSUD DR. M. Djamil, RSUD dr. Hassan dan RSUD dr. Soedibyo Padang Alau - Mei 2013. Sampel dipilih berdasarkan randomisasi sampling. Partisipulan dalam studi tidak dieksklusikan berdasarkan di laboratorinya memiliki faktor risiko kardiovaskular (umur dengan minimal 12,5%) (1) memiliki data tinggi dan rendah kolesterol kolesterol, (2) tidak mempunyai stroke, tidak pernah dan (3) memiliki riwayat asma, tidak memiliki penyakit ginjal dengan kreatinin serum (KFS) ser: >6,6.


Hasil pada saat lahir pada preklampsia dan kehamilan normal adalah 29,5(±7,42) mmHg, dan 49,18(±12,22) mmHg, p<0,001, Kadar laktat hemodinami pada preklampsia dan kehamilan normal adalah 18,52(±4,41) mmol/L dan 17,29(±3,73) mmol/L, p<0,001. Terdapat korelasi negatif yang sangat kuat dan tidak signifikan antara kadar asam laktat dengan hemodinami pada kehamilan normal (r = -0,334, p<0,05). Terdapat korelasi negatif yang lemah dan tidak signifikan antara kadar asam laktat dengan hemodinami pada kehamilan normal (r = -0,122, p<0,05).

Kadar asam laktat pada preklampsia lebih rendah dibandingkan kehamilan normal. Kadar hemodinami pada preklampsia lebih tinggi dibandingkan kehamilan normal. Kadar asam laktat rendah cenderung menunjukkan bahwa hemodinami pada preklampsia. Kadar asam laktat tinggi cenderung menunjukkan kadar hemodinami pada kehamilan normal.

Kata Kunci : Asam Laktat, Hemodinami, Preklampsia, Kehamilan Normal

Tesis ini telah dipertahankan di Arpan siting resmi dan dipertahankan oleh pada tanggal 24 Juli 2013. Abstrak telah dipertahankan (pengesahan)

Tanda tangan	1. 	2. 	3. 	4. 	5. 
Nama Lengkap	Dr. dr. Indrawati Siregar, SpOG(K)	Prof. dr. dr. Dedi Samsari, MS, SpGK	Prof. dr. Firdi Dedi, PhD, SpGK	Prof. dr. Nur Indrawati Lipoena, MS, PhD, SpGK	Dr. dr. Yuzwani, SpOG(K)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi : Dr. dr. Yuzwani, SpOG(K)
Nama 

Abstrak telah terdaftar ke Program Pascasarjana Fakultas Kesehatan Universitas dan mendapat nomor abstrak

Program Pascasarjana Universitas		
No. Abstrak/Pascasarjana	Nama	Tanda Tangan
No. Abstrak Universitas	Nama	Tanda Tangan

RINGKASAN

HUBUNGAN KADAR ASAM FOLAT DENGAN HOMOSISTEIN PLASMA PADA PREEKLAMPSIA DAN KEHAMILAN NORMAL

Inke Malahayati

Penyebab preeklampsia belum diketahui secara pasti. Aktivasi sel endotel diduga berhubungan dengan patogenesis preeklampsia. Sindrom klinis preeklampsia diduga akibat perubahan sel endotel yang tersebar luas. Salah satu faktor yang menyebabkan kerusakan vaskular pada preeklampsia adalah homosistein. Beberapa studi menunjukkan homosistein meningkat pada wanita dengan preeklampsia berat.

Asam folat terlibat dalam metabolisme homosistein. Kurangnya asupan asam folat atau kelainan genetik pada metabolisme asam folat berhubungan dengan peningkatan konsentrasi plasma atau serum homosistein. Pada penderita preeklampsia ditemukan kadar folat yang rendah. Folat adalah determinan mayor terhadap konsentrasi total homosistein.

Beberapa penelitian menyatakan bahwa ada hubungan antara defisiensi folat dengan peningkatan total homosistein (tHcy). Penelitian lain menyatakan sebaliknya yaitu tidak ada hubungan kadar serum asam folat dengan homosistein. Berdasarkan kontroversi itu maka dilakukanlah penelitian ini.

Tujuan penelitian: mengetahui rerata kadar asam folat plasma pada preeklampsia dan kehamilan normal, mengetahui rerata kadar homosistein plasma

pada preeklampsia dan kehamilan normal, mengetahui hubungan kadar asam folat dengan homosistein plasma pada preeklampsia dan kehamilan normal.

Penelitian ini dilakukan di RSUP DR. M. Djamil, RSUD dr. Rasidin dan RS dr. Reksodiwiryo Padang sejak Maret sampai Mei 2015. Penelitian ini adalah penelitian observasional dengan pendekatan potong lintang (*cross sectional*). Populasi adalah semua ibu hamil normal dengan usia kehamilan 37-40 minggu dan preeklampsia berat dengan usia kehamilan 20–40 minggu yang datang ke Instalasi Gawat Darurat atau dirawat di ruang bersalin RSUP Dr. M. Djamil dan RSUD dr. Rasidin Padang. Sampel adalah ibu hamil dengan preeklampsia berat dan kehamilan normal yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Bahan penelitian adalah plasma darah vena responden, Kit *human homocysteine* ELISA dan Kit *human folic acid* ELISA. Alat penelitian berupa lembar observasi yang berisi hasil pemeriksaan kadar plasma asam folat dan homosistein responden. Pengambilan sampel darah dilakukan oleh petugas ruang bersalin dan instalasi gawat darurat RSUP DR. M. Djamil Padang, RSUD dr. Rasidin dan RS dr. Reksodiwiryo Padang bersamaan dengan pengambilan rutin darah pasien. Sampel darah vena diambil sebanyak 3 cc di daerah vena antecubiti dalam posisi telentang. Selanjutnya, darah dimasukkan ke dalam vakutiner yang mengandung *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) kemudian dilakukan pemusingan dengan kecepatan 1000 x g. Plasma disimpan pada suhu -20°C sampai dilakukan pemeriksaan. Pemeriksaan kadar asam folat dan homosistein dilakukan di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Unand.

Hasil penelitian menunjukkan kadar asam folat pada preeklampsia lebih rendah yaitu $39,48 \pm 9,40$ ng/mL dibandingkan dengan kehamilan normal

47,04±13,20 ng/mL ($p < 0,05$). Kadar homosistein pada preeklampsia lebih tinggi yaitu 18,52±0,41 $\mu\text{mol/L}$ dibandingkan kehamilan normal 17,80±0,73 $\mu\text{mol/L}$ ($p < 0,05$). Korelasi kadar asam folat dengan homosistein pada preeklampsia adalah $r = -0,034$ ($p > 0,05$). Korelasi kadar asam folat dengan homosistein pada kehamilan normal adalah $r = -0,222$ ($p > 0,05$).

Kesimpulan penelitian ini adalah kadar asam folat pada preeklampsia lebih rendah daripada kehamilan normal dan kadar homosistein pada preeklampsia lebih tinggi daripada kehamilan normal. Kadar asam folat rendah cenderung meningkatkan kadar homosistein pada preeklampsia. Kadar asam folat tinggi cenderung menurunkan kadar homosistein pada kehamilan normal.

ABSTRAK

HUBUNGAN KADAR ASAM FOLAT DENGAN HOMOSISTEIN PADA PREEKLAMPSIA DAN KEHAMILAN NORMAL

Inke Malahayati

Salah satu penyebab kematian ibu adalah preeklampsia. Disfungsi endotel diduga menjadi penyebab patogenesis preeklampsia. Homosistein berperan dalam kerusakan vaskular pada preeklampsia. Defisiensi asam folat diperkirakan berkaitan dengan peningkatan homosistein. Tujuan penelitian untuk mengetahui hubungan kadar asam folat dengan homosistein pada preeklampsia dan kehamilan normal.

Desain penelitian adalah analitik potong lintang, observasional terhadap 46 orang ibu hamil preeklampsia dan kehamilan normal, usia 20-35 tahun di RSUP M. Djamil, RSUD Rasidin dan RST Reksodiwiryo Padang, Maret – Mei 2015. Sampel dipilih berdasarkan *consecutive sampling*. Pemeriksaan kadar asam folat dan homosistein dilakukan di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Unand dengan metode ELISA. Uji normalitas data dengan *One-Sample Kolmogorov Smirnov*, uji T tak berpasangan untuk beda rerata dan uji korelasi Pearson untuk menilai hubungan asam folat dengan homosistein menggunakan SPSS versi 16.0.

Rerata kadar asam folat pada preeklampsia dan kehamilan normal adalah $39,53 \pm 9,40$ ng/mL dan $47,04 \pm 13,20$ ng/mL ($p < 0,05$). Rerata kadar homosistein pada preeklampsia dan kehamilan normal adalah $18,52 \pm 0,41$ $\mu\text{mol/L}$ dan $17,80 \pm 0,73$ $\mu\text{mol/L}$ ($p < 0,05$). Terdapat korelasi negatif yang sangat lemah dan tidak signifikan antara kadar asam folat dengan homosistein pada preeklampsia ($r = -0,034$; $p > 0,05$). Terdapat korelasi negatif yang lemah dan tidak signifikan antara kadar asam folat dengan homosistein pada kehamilan normal ($r = -0,222$; $p > 0,05$).

Kadar asam folat pada preeklampsia lebih rendah dibandingkan kehamilan normal. Kadar homosistein pada preeklampsia lebih tinggi dibandingkan kehamilan normal. Kadar asam folat rendah cenderung meningkatkan kadar homosistein pada preeklampsia. Kadar asam folat tinggi cenderung menurunkan kadar homosistein pada kehamilan normal.

Kata kunci: Asam Folat, Homosistein, Preeklampsia, Kehamilan Normal

ABSTRACT

RELATIONS OF FOLIC ACID AND HOMOCYSTEINE PLASMA LEVELS IN PREECLAMPSIA AND NORMAL PREGNANCY

Inke Malahayati

One of the causes of maternal mortality is preeclampsia. Endothelial dysfunction is believed to be the cause of the pathogenesis of preeclampsia. Homocysteine roles in vascular damage in preeclampsia is homocysteine. Folic acid deficiency is associated with increased homocysteine level. The aim of this research was to determine the relationship of the level of folic acid and homocysteine levels in preeclampsia and normal pregnancy.

This study design was analytic cross-sectional, observation on 46 pregnant women with preeclampsia and normal pregnancy by the aged 20-35 years old in M. Djamil Hospital, Rasidin Hospital and Reksodiwiryo Padang Hospital, from March to Mei 2015. Samples were selected based on consecutive sampling. The level of folic acid and homocysteine were conducted in the Laboratory of Biomedical Faculty of Medicine Andalas University by ELISA method. Normality test data with One-sample Kolmogorov Smirnov test, unpaired T- test for mean difference of mean and Pearson correlation test to assess the relationship of folic acid and homocysteine using SPSS 16.0 version.

The mean level of folic acid in preeclampsia and normal pregnancy were 39.53 ± 9.40 ng/mL and 47.04 ± 13.20 ng/mL ($p < 0,05$). The mean level of homocysteine in preeclampsia and normal pregnancy were $18.52 \pm 0,41$ $\mu\text{mol/L}$ dan 17.80 ± 0.73 $\mu\text{mol/L}$ ($p < 0,05$). There was an insignificant and very weak negative correlation between the level of folic acid and homocysteine in preeclampsia ($r = -0,034$; $p > 0,05$). There was an insignificant and weak negative correlation between folic acid and homocysteine level in normal pregnancy ($r = -0,222$; $p > 0,05$).

In conclusion, folic acid level in preeclampsia was lower than in normal pregnancy. Homocysteine level in preeclampsia was higher than in normal pregnancy. Low folic acid level tend to increase the level of homocysteine in preeclampsia. High folic acid level tend to decrease homocysteine level in normal pregnancy.

Keywords: Folic acid, homocysteine, preeclampsia, normal pregnancy

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'aalamiin, puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan kesempatan dan kemampuan hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Tesis ini ditulis berdasarkan hasil penelitian yang berjudul **Hubungan Kadar Asam Folat dengan Homosistein Plasma Pada Preeklampsia dan Kehamilan Normal.**

Selama penulisan tesis ini, banyak bantuan dan dukungan yang penulis terima dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada yang terhormat:

1. Rektor Universitas Andalas Padang
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang
3. Ketua Program Studi S2 Kebidanan Universitas Andalas Padang
4. Bapak Dr.dr.Joserizal Serudji, SpOG(K) dan Ibu Prof.Dr.dr. Delmi Sulastri, MSc, SpGK, pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk mengarahkan, membimbing dan memotivasi sehingga penulis bisa menyelesaikan tesis ini.
5. Bapak Prof. dr. Fadil Oenzil, PhD, SpGK, Ibu Prof. dr. Nur Indrawaty Lipoeto, PhD, SpGK dan Ibu Dr.dr. Yusrawati, SpOG(K), penguji yang telah memberikan masukan dan arahan serta koreksi dalam penulisan tesis ini.
6. Seluruh dosen Program Studi S2 Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas yang telah memberikan ilmu pengetahuan untuk mendukung penyusunan tesis ini

7. Direktur Politeknik Kesehatan Medan yang telah mengizinkan penulis untuk mengikuti pendidikan
8. Direktur RSUP Dr. M. Djamil, RSUD dr. Rasidin dan RST dr. Reksodiwiryo Padang beserta staf yang telah mengizinkan penulis untuk melakukan penelitian di rumah sakit ini.
9. Responden yang telah berpartisipasi dalam penelitian ini

Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat, ampunan dan karunia-Nya kepada semua pihak yang telah terlibat dalam membantu penelitian ini. Penulis berharap semoga hasil penelitian ini bermanfaat dalam pengembangan ilmu dan pelayanan kebidanan.

Tiada gading yang tak retak. Akhirnya penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan dan kesempurnaan penelitian ini.

Padang, Juli 2015

Inke Malahayati

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSYARATAN	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN	iv
RINGKASAN	v
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN.....	xix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
1.1 Preeklampsia.....	8
1.1.1 Definisi Preeklampsia.....	8
1.1.2 Faktor Risiko Preeklampsia.....	10
1.1.3 Etiologi.....	11
1.1.4 Patogenesis.....	15
1.2 Homosistein	22
1.2.1 Metabolisme Homosistein	23
1.2.2 Hiperhomosisteinemia	25
2.2.3 Patogenesis Hiperhomosisteinemia	28
2.2.4 Homosistein pada kehamilan normal dan preeklampsia.....	32
2.3 Asam Folat.....	34

2.3.1 Struktur dan Fungsi Asam Folat	34
2.3.2 Siklus folat	35
2.3.3 Kebutuhan dan Asupan Folat dalam Kehamilan	37
2.3.4 Asam Folat Pada Kehamilan Normal dan Preeklampsia	37
2.4 Hubungan Asam Folat dengan Homosistein.....	41
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	43
3.1 Kerangka Konsep.....	43
3.3 Hipotesis	45
BAB IV METODE PENELITIAN	46
4.1 Desain Penelitian	46
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	46
4.3 Populasi dan Sampel Penelitian.....	46
4.4 Variabel Penelitian.....	49
4.5 Definisi Operasional	50
4.6 Bahan dan Alat Penelitian.....	51
4.7 Cara Kerja Penelitian	51
4.8 Alur Penelitian	55
4.9 Etika Penelitian	56
4.10 Pengolahan dan Analisis Data	56
BAB V HASIL PENELITIAN.....	59
5.1 Karakteristik Subjek Penelitian.....	59
5.2 Kadar Asam Folat dan Homosistein pada Subjek Penelitian.....	61
5.3 Hubungan Asam Folat dengan Homosistein pada Preeklampsia dan Kehamilan Normal.....	63
BAB VI PEMBAHASAN.....	66
6.1 Keterbatasan Penelitian.....	66
6.2 Perbedaan Rerata Kadar Asam Folat pada Preeklampsia dan Kehamilan Normal.....	66
6.3 Perbedaan Rerata Kadar Homosistein pada Preeklampsia dan Kehamilan Normal.....	69

6.4 Hubungan Kadar Asam Folat dengan Homosistein pada Preeklampsia.....	72
6.5 Hubungan Kadar Asam Folat dengan Homosistein pada Kehamilan Normal	76
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN.....	82
7.1 Kesimpulan	82
7.2 Saran	82
DAFTAR PUSTAKA	83
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
2.1 Faktor Risiko Utama Preeklampsia.....	11
4.1 Interpretasi Hasil Uji Korelasi	57
4.2 <i>Decision Points</i> Dalam Menentukan Korelasi Linier Untuk Besar Sampel yang Berbeda	58
5.1 Karakteristik Dua Kelompok Subjek Penelitian	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Implantasi plasenta normal pada trimester ketiga dan plasenta pada preeklampsia atau restriksi pertumbuhan janin	12
2.2. Ringkasan patogenesis preeklampsia	16
2.3. Perbandingan plasentasi pada kehamilan normal (atas) dan preeklampsia (bawah)	18
2.4. Metabolisme homosistein	25
2.5. Homosistein menyebabkan kerusakan vaskular langsung atau melalui timbulnya ROS	30
2.6. Struktur asam folat	34
2.7. Siklus folat	36
2.8. Mekanisme asam folat dalam menurunkan risiko preeklampsia	40
3.1. Kerangka konsep hubungan asam folat dengan homosistein pada preeklampsia dan kehamilan normal	43
4.1. Alur penelitian	55
5.1. Distribusi Subjek Penelitian Berdasarkan Paritas	60
5.2. Distribusi Subjek Penelitian Berdasarkan Riwayat Preeklampsia	61
5.3. <i>Box Plot</i> Rerata Kadar Asam Folat pada Kehamilan Normal dan Preeklampsia Berat	62
5.4. <i>Box Plot</i> Rerata Kadar Homosistein pada Kehamilan Normal dan Preeklampsia	63
5.5. <i>Scatter Plot</i> Hubungan Kadar Asam Folat dengan Homosistein pada Preeklampsia Berat	64
5.6. <i>Scatter Plot</i> Hubungan Kadar Asam Folat dengan Homosistein pada Kehamilan Normal	63

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 : Surat Keterangan Lolos Kaji Etik
- Lampiran 2 : Surat Izin Penelitian
- Lampiran 3 : Surat Keterangan Selesai Penelitian
- Lampiran 4 : Penjelasan sebelum persetujuan (informasi penelitian)
- Lampiran 5 : Lembaran persetujuan (*Informed Consent*)
- Lampiran 6 : Formulir Penelitian
- Lampiran 7 : Master tabel
- Lampiran 8 : Hasil uji statistik
- Lampiran 9 : Kurva standar hasil pemeriksaan asam folat dan homosistein
- Lampiran 10 : Daftar Riwayat Hidup

DAFTAR SINGKATAN

ADMA	: asymmetric dimethylarginine
AKI	: Angka Kematian Ibu
BHMT	: betaine- homocysteine methyltransferase
BKKBN	: Badan Kependudukan dan Keluarga Berencana Nasional
BPS	: Biro Pusat Statistik
CBS	: cystathione β synthase
CGL	: cystathionine γ -lyase
DHF	: dihydrofolate
DHFR	: dihydrofolate reductase
DNA	: deoxyribonucleic acid
dTMP	: deoxythymidine monophosphate
dUMP	: deoxyuridine monophosphate
EC-SOD	: extracellular superoxide dismutase
EDHF	: endothelial-derived hyperpolarizing factor
EDRF	: endothelial-derived relaxing factor
EDTA	: ethylenediaminetetraacetic acid
eNOS	: endothelial isoform of nitric oxide synthase
HCA	: homocysteine acid (asam Hcy)
Hcy	: homosistein
HELLP	: Hemolysis; Elevated Liver enzymes; Low Platelet
HLA-G	: human leucocyte antigen - G
HRP	: Horseradish Peroxidase
IFN	: interferon
IL	: interleukin
LDL	: Low Density Lipoprotein
MCP	: monocyte chemoattractant protein
MS	: methionine synthase
MTHFD	: methylenetetrahydrofolate dehydrogenase
MTHFR	: methylentetrahydrofolate reductase
MTRR	: Methionine synthase reductase
NADPH	: Nicotinamide Adenin Dinucleotide Phosphate H
NF- κ B	: nuclear factor-kappa B
NK	: natural killed
NO	: nitric oxide (nitrit oksida)
NOS	: Nitric Oxide Synthase
PAF	: platelet activating factor
PGI ₂	: prostasiklin
PIGF	: placental growth factor
PML	: postmethionine load
PSP	: penjelasan sebelum persetujuan
RE	: retikulum endoplasma
RNA	: ribonucleic acid
RNS	: reactive nitrogen species
ROS	: reactive oxygen species
SAH	: S-adenosylhomocysteine
SAM	: S-adenosylmethionine

SDKI	: Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia
sEng	: soluble endoglin
sFlt-1	: soluble fms-like tyrosine kinase-1
SHMT	: serine hydroxymethyltransferase
TGF	: tissue growth factor
Th	: T helper
tHcy	: total homosistein
THF	: tetrahydrofolate
TNF	: tumor necrosis factor
TYMS	: thymidylate synthase
UPR	: unfolded protein response
VEGF	: vascular endothelial growth factor
WHO	: World Health Organization

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Angka Kematian Ibu (AKI) merupakan salah satu indikator yang menggambarkan indeks pembangunan manusia suatu negara. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan AKI secara global sebesar 210/100.000 kelahiran hidup (WHO, 2014). Berdasarkan Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia 2012 (SDKI), AKI mencapai 359/100.000 kelahiran hidup (BPS, BKKBN, Kemenkes & ICF International, 2013).

Salah satu penyebab kematian ibu di Indonesia adalah preeklampsia. Preeklampsia masih merupakan masalah dalam pelayanan obstetrik dan merupakan penyebab meningkatnya mortalitas dan morbiditas ibu dan neonatal (Lain & Roberts, 2002). Saat ini preeklampsia merupakan penyebab kematian pada 2-3% wanita hamil di seluruh dunia (Yulianti, 2006).

Angka kejadian preeklampsia bervariasi di masing-masing negara berkisar 3% -7% (Al-Jameil, Khan & Khan, 2014). Kejadian cukup tinggi terjadi di negara berkembang (Duley, Meher & Abalos, 2006). Di Amerika Serikat, sejak 1980-2010 terdapat peningkatan kasus preeklampsia dari 3,4% menjadi 3,8% (Ananth, Keyes & Wapner, 2013). Di Indonesia angka kejadian preeklampsia berkisar 7-10% dari seluruh kehamilan (Roeshadi, 2006). Kejadian preeklampsia di RSUP Dr. M. Djamil Padang sejak tahun 2011-2013 mengalami peningkatan kasus. Data dari Rekam Medis RSUP Dr. M. Djamil Padang tahun 2011 menyatakan dari 1432 persalinan ditemukan 137 kasus preeklampsia

(9,5%), tahun 2012 sebanyak 160 kasus preeklampsia dari 1661 persalinan (9,5%) dan tahun 2013 kasus preeklampsia ditemukan 216 dari 1710 persalinan (12,6%).

Penyebab preeklampsia belum diketahui secara pasti. Selama dua dekade terakhir, aktivasi sel endotel telah menjadi pusat pemahaman kontemporer mengenai patogenesis preeklampsia. Sindrom klinis preeklampsia diduga akibat perubahan sel endotel yang tersebar luas (Cunningham, Leveno, Bloom, Hauth, Rouse & Sponge, 2010; Cowles, Saleh & Cotton, 1996). Sel endotel mensintesis beberapa agen yang terlibat dalam regulasi vasokonstriksi dan vasodilatasi (Isber, 2006). Substansi vasodilatasi yang dikeluarkan oleh endotel antara lain nitrit oksida (NO) yang disebut juga dengan *endothelial-derived relaxing factor* (EDRF), *endothelial-derived hyperpolarizing factor* (EDHF), prostasiklin (PGI₂), bradikinin, asetilkolin, serotonin dan histamin. Substansi vasokonstriktor antara lain endothelin, *platelet activating factor* (PAF), angiotensin II, prostaglandin H₂, trombin dan nikotin (Karolzack & Olas, 2009).

Apabila endotel mengalami gangguan oleh berbagai hal seperti *shear stress* hemodinamik, stress oksidatif dan paparan dengan sitokin inflamasi maupun hiperkolesterolemia, maka fungsi pengatur menjadi abnormal dan disebut disfungsi endotel (Darma *et al*, 2005). Pada disfungsi endotel ditemukan ketidakseimbangan antara faktor vasodilatasi dan vasokonstriksi. Sel endotel yang sehat sanggup memelihara integritas vaskular, mencegah adhesi platelet dan mempengaruhi tonus otot polos vaskular. Adanya kerusakan endotel akan mengakibatkan ketidakmampuan menjaga fungsi tersebut sehingga berakibat pada meningkatnya permeabilitas vaskular, trombosis platelet dan meningkatnya tonus

vaskular. Ketiga hal yang mencerminkan disfungsi endotel ini dapat ditemukan pada preeklampsia (Cunningham *et al*, 2010; Mabie & Sibai, 2003).

Kerusakan vaskular pada buruknya sirkulasi utero-plasental maternal dan umbilikal-plasental janin adalah sumber preeklampsia. Salah satu faktor yang menyebabkan kerusakan vaskular pada preeklampsia adalah homosistein (Patel, Chakrabarti, Singh, Patel, Mewada & Sharma, 2012). Beberapa studi menunjukkan homosistein meningkat pada wanita dengan preeklampsia berat (Karunashree, Mukhopadhyay, Gayatri, Chippa & Patil, 2014; Mujawar, Patil & Daver, 2011; Sangeeta *et al*, 2013; Hoque, Bulbul, Mahal & Islam, 2008).

Homosistein merupakan senyawa antara yang dihasilkan pada metabolisme metionin, suatu asam amino esensial yang terdapat dalam beberapa bentuk di plasma. Metionin merupakan asam amino esensial yang mengandung sulfur yang didapat dari makanan melalui asupan protein (Refsum *et al*, 2004). Peningkatan kadar total homosistein plasma merupakan faktor risiko penyakit vaskular baik koroner, serebral maupun perifer (Blom & Smulders, 2011).

Hiperhomosisteinemia menyebabkan disfungsi endotel melalui beberapa mekanisme toksik langsung dan stres oksidatif (Makedos *et al*, 2007; Taddei, Viridis, Ghiadoni, Salvetti & Salvetti, 2000). Hiperhomosisteinemia mengurangi bioaktivitas NO yang merupakan *relaxing factor* otot polos yang bersifat sebagai vasodilator dan pelicin untuk mencegah perlekatan *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan sel-sel darah serta sebagai respon terhadap berbagai macam rangsang (Yulianti, 2006; Taddei *et al*, 2000). Penurunan NO menyebabkan rusaknya fungsi vasodilator endotel sehingga endotel mengalami disfungsi. Kunci sistem regulator endotel yang normal adalah *Nitric Oxide Synthase* (NOS) yang

menghasilkan NO. Salah satu fisiologi endotel yang penting adalah *shear stress* dinding pembuluh darah, dimana pada saat laju darah meningkat maka *shear stress* akan menurun. Nitrit oksida akan menginduksi vasodilatasi dan mengatur tahanan vaskular. Terganggunya fungsi endotel sebagai vasodilator berperan dalam patofisiologi hipertensi (Yulianti, 2006).

Homosistein meningkatkan stres oksidatif dan kadar *reactive oxygen species* (ROS) yang menghambat ekspresi atau fungsi enzim anti oksidan seperti *extracellular superoxide dismutase* (EC-SOD) dengan merangsang degradasi proteoglikan sulfat heparan endotel (Isber, 2006). Hiperhomosisteinemia juga dapat mengaktifkan komponen kaskade inflamasi. Homosistein akan mengaktifkan *nuclear factor-kappa B* (NF- κ B) dan menyebabkan ekspresi berlebihan sitokin seperti *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) yang menghambat vasokonstriksi dan dengan demikian berakibat kerusakan fungsi endotel (Isber, 2006). Preeklampsia dianggap sebagai penyakit vaskular sistemik yang timbul dari disfungsi endotel maternal, oleh karena itu maka hiperhomosisteinemia mungkin berkontribusi terhadap kejadian preeklampsia (Wang, Trudinger, Duarte, Wilcken & Li, 2000; Refsum *et al*, 2006; Blom & Smulders, 2011).

Metabolisme homosistein terutama tergantung pada tiga enzim (*methionine synthase*, *5,10-methylenetetrahydrofolate reductase*, *cystathione β synthase*) dan beberapa vitamin kofaktor (B₆, B₁₂ dan asam folat). Asam folat dan vitamin B ini terlibat dalam sejumlah besar proses biokimia, termasuk metabolisme homosistein (Micle, Muresan, Anta, Bodog & Bodog, 2012). Asam folat berperan penting pada dua siklus biokimia yaitu terlibat dalam biosintesis *deoxyribonucleid acid* (DNA) dan metabolisme satu-karbon (DNA, lipid dan

metilasi protein). Asam folat adalah substrat untuk konversi homosistein menjadi metionin (Megahed & Taher, 2005). Kurangnya asupan asam folat atau kelainan genetik pada metabolisme asam folat berhubungan dengan peningkatan konsentrasi plasma atau serum homosistein (Roberts, Balk, Bodnar, Belizan, Bergel & Martinez, 2003; Dodds *et al*, 2008; Var *et al*, 2003; Mujawar *et al*, 2011; Katre *et al*, 2010). Pada penderita preeklampsia ditemukan kadar folat yang rendah (Williams, Bulmar, Innes, & Pipkin, 2011).

Folat adalah determinan mayor terhadap konsentrasi total homosistein (Holmes *et al*, 2005). Penelitian Salehi *et al* (2012) di Iran menunjukkan peningkatan satu unit kadar serum asam folat menurunkan risiko preeklampsia secara signifikan (OR = 0,88; CI 95%: 0,77-0,99). Hasil penelitian Kim *et al* (2014) di Korea menyatakan risiko preeklampsia menurun dengan suplementasi asam folat (OR= 0,27; CI 95%: 0,09-0,76) dan insiden preeklampsia lebih rendah pada kelompok dengan suplementasi asam folat dibandingkan dengan kelompok kontrol (4,2% vs 14,1%; p=0,0076).

Defisiensi folat selama kehamilan dilaporkan sebesar 24% di kawasan tertentu di Asia, Afrika, Amerika Tengah dan Selatan, serta 2,5-5% dari kehamilan di negara maju (Scott & McNulty, 2008). Di Afrika Selatan dilaporkan 90% ibu melahirkan dan menyusui mengalami defisiensi asam folat sedangkan di Indonesia belum ada data yang pasti (Tangkilisan, 2002). Asupan sebanyak 0,4 mg/hari atau 400 µg/hari dapat memenuhi angka kecukupan gizi yang dianjurkan di Indonesia, sementara itu untuk ibu hamil dan menyusui dianjurkan penambahan asam folat 200 µg/hari (Departemen Kesehatan RI, 2005).

Beberapa penelitian menyatakan bahwa ada hubungan antara defisiensi folat dengan peningkatan total homosistein (tHcy) (Kim *et al*, 2014; Patel *et al*, 2012; Wallace *et al*, 2008; Patrick *et al*, 2004). Penelitian lain menyatakan sebaliknya yaitu tidak ada hubungan kadar asam folat dengan homosistein (Mujawar *et al*, 2011; Makedos *et al*, 2007; Katre *et al*, 2010; Saha, Jahan, & Shakya, 2009). Mengingat masih dijumpainya kontroversi peran asam folat terhadap peningkatan homosistein maka peneliti ingin mengetahui hubungan asam folat dengan homosistein pada preeklampsia berat dan kehamilan normal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah: Apakah ada hubungan kadar asam folat dengan homosistein plasma pada preeklampsia dan kehamilan normal?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mengkaji hubungan antara kadar asam folat dengan homosistein plasma pada preeklampsia dan kehamilan normal.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Mengetahui rerata kadar asam folat plasma pada preeklampsia dan kehamilan normal
2. Mengetahui rerata kadar homosistein plasma pada preeklampsia dan kehamilan normal

3. Mengetahui hubungan kadar asam folat dengan homosistein plasma pada preeklampsia dan kehamilan normal.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Untuk ilmu pengetahuan

Meningkatkan pemahaman, menambah wawasan dan pengetahuan tentang peranan asam folat dengan homosistein pada penderita preeklampsia dan kehamilan normal.

1.4.2 Pengambil kebijakan pelayanan kesehatan

Mendeteksi preeklampsia dengan memeriksa kadar homosistein pada trimester pertama kehamilan sebagai alternatif pemeriksaan laboratorium ibu hamil dengan risiko preeklampsia.

1.4.3 Kepentingan masyarakat

Masyarakat mengerti tentang peranan homosistein pada preeklampsia sehingga dapat mencegah dengan konsumsi asam folat yang cukup.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Preeklampsia

1.1.1 Definisi Preeklampsia

Preeklampsia adalah sindrom khusus kehamilan yang ditandai dengan awitan baru hipertensi dan proteinuria yang terjadi setelah kehamilan 20 minggu (Palei, Spradley, Warrington, George & Granger, 2013; Naljayan & Karumanchi, 2013). Pada preeklampsia terjadi sindrom penurunan perfusi organ akibat vasospasme dan aktivasi endotel pada kehamilan (Cunningham *et al*, 2010). *National High Blood Pressure Education Program Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy* menyatakan kriteria diagnosis preeklampsia adalah keadaan hipertensi dalam kehamilan yang didiagnosis setelah kehamilan 20 minggu dan disertai proteinuria. Tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan diastolik ≥ 90 mmHg dikategorikan sebagai hipertensi. Pemeriksaan tekanan darah dilakukan 2 kali dengan menggunakan *cuff* yang sesuai, pada jarak pengukuran 4-6 jam. Proteinuria diartikan dengan ekskresi protein dalam urin ≥ 300 mg/24 jam, rasio protein: kreatinin urin $\geq 0,3$; atau bila terdapat protein sebanyak 30 mg/dL (dengan pemeriksaan kualitatif 1+) pada pengambilan urin secara acak (Cunningham *et al*, 2010; Maynard & Karumanchi, 2011; Uzan, Carbonnel, Asmar, & Ayoubi, 2011).

Edema bukanlah tanda khas pada preeklampsia karena edema biasa dijumpai pada wanita hamil. Akan tetapi *onset* tiba-tiba edema yang berat, khususnya pada tangan dan wajah, merupakan gejala penting yang berbahaya.

Perubahan ini kadang kala hanya dapat dideteksi oleh pasien (Maynard & Karumanchi, 2011). Pada beberapa pasien yang mengalami eklampsia sebelum atau setelah kehamilan 32 minggu, ada yang tidak disertai edema (Naljayan & Karumanchi, 2013).

Preeklampsia yang terjadi pada wanita yang menderita penyakit hipertensi vaskular kronis atau penyakit ginjal disebut *superimposed preeclampsia*. Hipertensi kronis didefinisikan sebagai penyakit hipertensi yang menetap sebelum kehamilan 20 minggu dan menetap setelah 12 minggu pascapartum (Cunningham *et al*, 2010; Mustafa, Ahmed, Gupta, & Venuto, 2012).

Klasifikasi preeklampsia terdiri dari preeklampsia berat dan preeklampsia ringan. Diagnosis preeklampsia berat ditegakkan berdasarkan tekanan darah dan proteinuria serta salah satu gejala berikut (Cunningham *et al*, 2010; Jeyabalan, 2013):

- tekanan darah sistolik ≥ 160 mmHg dan tekanan darah diastolik ≥ 110 mmHg
- proteinuria ≥ 5 gr/24 jam atau $\geq 4+$
- oliguria (produksi urin < 500 ml/24 jam yang disertai kenaikan kadar kreatinin plasma)
- gangguan visus dan serebral
- nyeri epigastrium atau nyeri kuadran kanan atas abdomen
- edema paru-paru dan sianosis
- pertumbuhan janin terhambat, abrupsia plasenta atau oligohidramnion
- asindrom HELLP (*Hemolysis; Elevated Liver enzymes; Low Platelet*)

Preeklampsia ringan didiagnosis bila tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg atau tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg disertai dengan proteinuria 1+ (pada pemeriksaan kualitatif) atau ≥ 300 mg/24 jam (Cunningham *et al*, 2010; Jeyabalan, 2013). Berdasarkan saat terjadinya, preeklampsia diklasifikasikan menjadi preeklampsia awitan dini (PAD) dan preeklampsia awitan lanjut (PEAL). preeklampsia awitan dini terjadi sebelum kehamilan 34 minggu, berhubungan dengan kelainan janin dan preeklampsia awitan lanjut terjadi setelah kehamilan 34 minggu, biasanya disebabkan oleh kelainan maternal (Savaj & Vaziri, 2012).

1.1.2 Faktor Risiko Preeklampsia

Beberapa faktor yang dianggap berperan pada kejadian preeklampsia adalah (Lain & Roberts, 2002; Park & Brewster, 2007; Naljayan & Karumanchi; 2013):

1. Genetik
2. Mola hidatidosa, hidrops fetalis, bayi besar
3. Trombofilia
4. Suami pernah menghasilkan kehamilan preeklampsia dengan wanita lain
5. Inseminasi donor
6. Stress psikososial
7. Faktor V Leiden (resistensi aktivasi protein C), defisiensi protein S
8. Ras (hitam)

Sedangkan faktor risiko lain yang dikemukakan oleh Uzan *et al* (2011)

adalah:

Tabel 2.1. Faktor Risiko Utama Preeklampsia

Faktor risiko	OR atau RR (95% CI)
Sindrom antibody antiphospholipid	9.7 (4.3 - 21.7)
Penyakit ginjal	7.8 (2.2 - 28.2)
Riwayat preeklampsia	7.2 (5.8 - 8.8)
<i>Systemic lupus erythematosus</i>	5.7 (2.0 - 16.2)
Nulliparitas	5.4 (2.8 - 10.3)
Hipertensi kronis	3.8 (3.4 - 4.3)
Diabetes mellitus	3.6 (2.5 - 5.0)
Bertempat tinggal di dataran tinggi	3.6 (1.1 - 11.9)
Kehamilan multipel	3.5 (3.0 - 4.2)
Riwayat keluarga dengan penyakit kardiovaskular	3.2 (1.4 - 7.7)
Obesitas	2.5 (1.7 - 3.7)
Riwayat keluarga preeklampsia	2.3 - 2.6 (1.8 - 3.6)
Umur > 40 tahun	1.68 (1.23 - 2.29)
	(nulipara)
	1.96 (1.34 - 2.87)
	(multipara)

Sumber : Uzan *et al*, 2011.

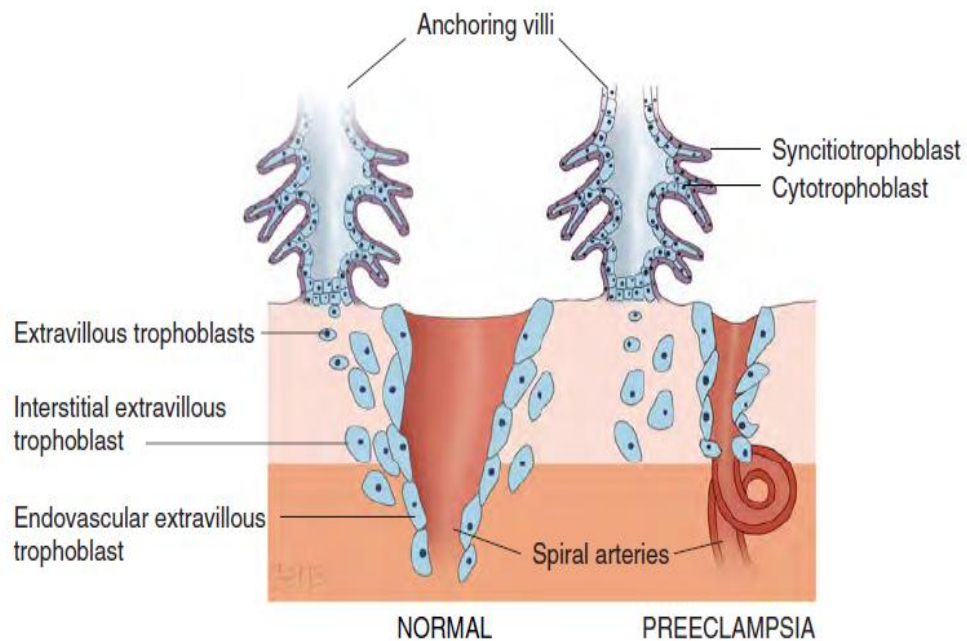
1.1.3 Etiologi

Preeklampsia merupakan hasil akhir berbagai faktor yang kemungkinan melibatkan sejumlah faktor pada ibu, plasenta dan janin. Faktor tersebut adalah:

1.1.3.1 Invasi trofoblastik abnormal

Pada perkembangan plasenta, sitotrofoblas berdiferensiasi menjadi 2 tipe yaitu sinsitiotrofoblas multinuklear dan trofoblas ekstravilus. Pada implantasi normal, arteriola spiralis uteri mengalami *remodeling* ekstensif karena diinvasi oleh trofoblas endovaskular (Kanasaki & Kalluri, 2009). Sel-sel ini menggantikan lapisan otot dan endotel untuk memperlebar diameter pembuluh darah. Vena-vena hanya diinvasi secara superfisial (Uzan *et al*, 2011). Pada preeklampsia terjadi invasi

trofoblastik inkomplet, akibatnya pembuluh desidua akan dilapisi oleh trofoblas endovaskular. Arteriola miometrium yang lebih dalam tidak kehilangan lapisan endotel dan jaringan muskuloelastiknya dan rerata diameter eksternalnya hanya setengah diameter pembuluh pada plasenta normal (gambar 2.1) (Cunningham, *et al*, 2010).



Gambar 2.1. Implantasi plasenta normal pada trimester ketiga dan plasenta pada preeklampsia atau restriksi pertumbuhan janin (Cunningham *et al*, 2010).

1.1.3.2 Faktor imunologis

Kegagalan sistem imun maternal untuk mengenal unit fetoplasental juga menjadi penyebab preeklampsia. Tahap pertama dari invasi trofoblas abnormal diduga sebagai akibat ekspresi *human leucocyte antigen G* (HLA-G) yang tidak adekuat menyebabkan berkurangnya stimulasi sel *natural killed* (NK) yang berpartisipasi dalam produksi sitokin dan faktor angiogenik (Servitje, Lopez & Olson, 2010). Pada preeklampsia, sel NK meningkatkan produksi sitokin *T helper 1* (Th1)

(Yeh, Chao & Huang, 2012). Tahap berikutnya ditandai oleh respon inflamasi sistemik yang melibatkan lekosit dan endotel. Rangsangan inflamasi ini muncul pada awal preeklampsia dan menyebabkan dilepasnya sinsitiotrofoblas nekrosis dan/atau apoptosis ke dalam sirkulasi maternal (Servitje *et al*, 2010).

Pada preeklampsia interaksi lekosit dan trofoblas tidak efektif. Limfosit desidua dan sel *mononuclear* darah perifer pada pasien preeklampsia mensintesis kadar sitokin Th1 yang tinggi seperti *interleukin-1* (IL-1), IL-2, IL-6, *tumor necrosis factor – α* (TNF- α) dan *interferon- γ* (IFN- γ), sementara itu sekresi sitokin Th2 (IL-10, IL-5) menurun (Verlohren, Muller, Luft & Dechend, 2009). Sel NK diduga terlibat dalam kemampuan yang unik untuk mengatur proses perkembangan plasenta yang penting, termasuk invasi trofoblas dan pertumbuhan vaskular (Verlohren *et al*, 2009; Yeh *et al*, 2012).

1.1.3.3 Aktivasi sel endotel

Sindrom klinis preeklampsia diduga terjadi akibat perubahan sel endotel yang tersebar luas. Endotel yang utuh berfungsi memelihara integritas dan patensi kompartemen vaskular, memelihara fluiditas darah, mengatur trombosis dan mencegah koagulasi intravaskular, regulasi inflamasi, regulasi pertumbuhan sel, oksidasi LDL dan menjaga tonus vaskular serta mengatur permeabilitas dinding pembuluh darah terhadap berbagai sel dan molekul (Cowles *et al*, 1996). Endotel menghasilkan zat-zat yang bersifat relaksasi pembuluh darah, seperti NO dan prostasiklin. Sel endotel yang rusak atau teraktivasi dapat menghasilkan

lebih sedikit NO dan menyekresikan substansi yang memacu koagulasi, serta meningkatkan sensitivitas terhadap vasopresor (Park & Brewster, 2007). Banyak bukti menunjukkan mengenai aktivasi endotel meliputi perubahan khas pada morfologi endotel kapiler glomerulus, peningkatan permeabilitas kapiler dan peningkatan kadar zat-zat terkait aktivasi endotel dalam darah (Uzan *et al*, 2011). Teori disfungsi endotel juga berkaitan erat dengan teori stres oksidatif yang diduga merupakan salah satu mekanisme penting penyebab terjadinya disfungsi endotel (Cunningham *et al*, 2010).

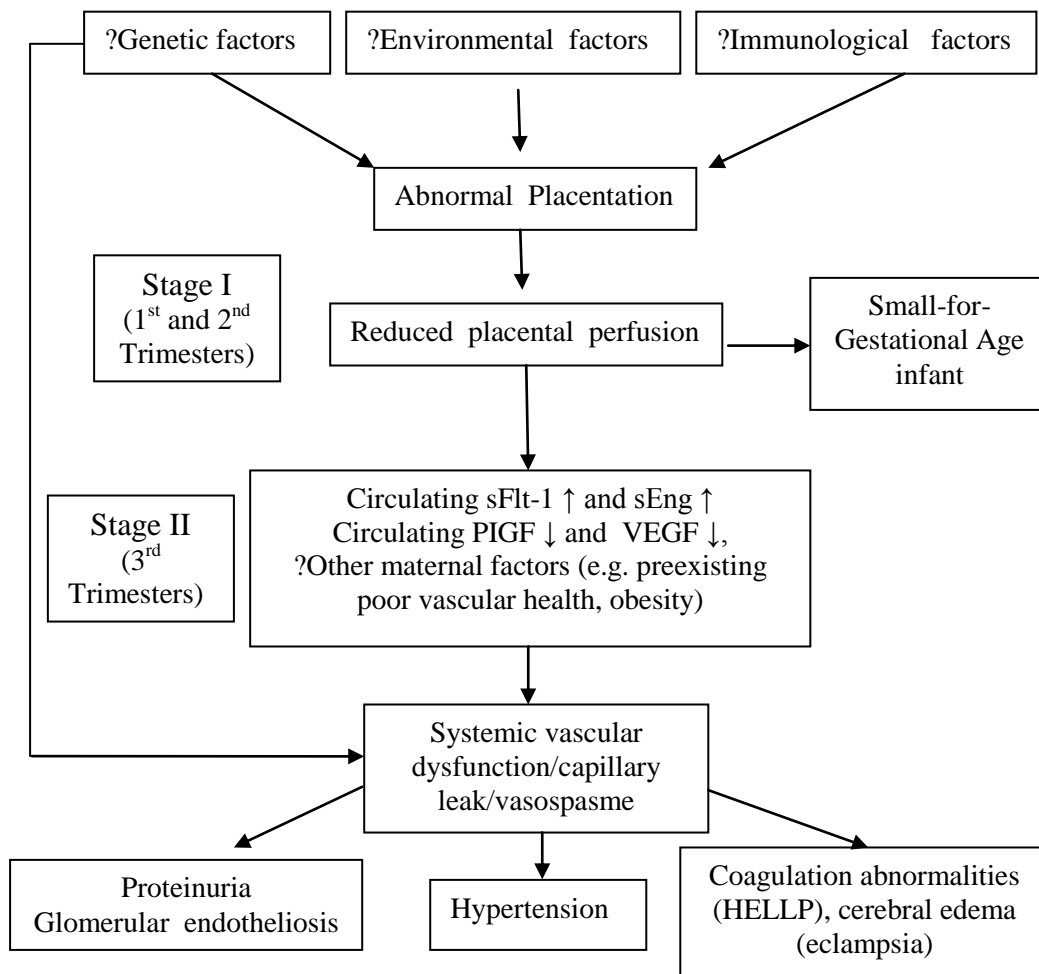
1.1.3.4 Faktor genetik

Teori lain yang berhubungan dengan plasentasi abnormal adalah teori genetik. Kerentanan beberapa gen ini ditemukan pada preeklampsia. Gen ini berinteraksi dalam sistem hemostasis dan kardiovaskular seperti respon inflamasi. Gen yang terlibat ini saling berhubungan antara lain *angiotensinogen* pada 1-q42-43 dan *eNos* pada 7q36; dengan lokus utama yang penting adalah 2p12, 2p25, 9p13 dan 10q22.1 (Uzan *et al*, 2011). Beberapa gen polimorfis dalam *soluble fms-like tyrosine kinase-1* (sFlt-1) dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) berhubungan dengan keparahan preeklampsia. Kehamilan dengan janin trisomi 13 memiliki insiden preeklampsia lebih tinggi. Dalam hal ini gen Flt-1 terletak pada kromosom 13 (Mustafa *et al*, 2012). Pendapat lain mengemukakan preeklampsia dan eklampsia mempunyai kecenderungan menurun (herediter). Kecenderungan herediter ini merupakan akibat interaksi ratusan gen yang diwariskan dari ayah dan

ibu. (Cunningham *et al*, 2010). Laki-laki yang dilahirkan dari kehamilan dengan preeklampsia mempunyai risiko yang lebih tinggi untuk menjadi ayah dengan kehamilan preeklampsia juga. Suami yang pernah menghasilkan kehamilan preeklampsia dengan wanita lain juga berisiko untuk menghasilkan kehamilan preeklampsia dengan istri lainnya. Hal ini membuktikan bahwa genotip ibu, ayah (atau janin) juga berperan terhadap risiko preeklampsia (Mustafa *et al*, 2012)

1.1.4 Patogenesis

Patogenesis preeklampsia sangat kompleks karena melibatkan berbagai faktor genetik, imunologi dan lingkungan yang saling berinteraksi. Secara umum, patogenesis preeklampsia terdiri dari 2 tahapan proses. Tahap pertama merupakan tahap asimtomatik yang ditandai oleh perkembangan plasenta yang abnormal selama trimester I yang mengakibatkan insufisiensi plasenta dan pelepasan beberapa material plasenta ke dalam sirkulasi maternal. Tahap kedua yaitu tahap simtomatik atau sindrom maternal yang ditandai hipertensi, gangguan ginjal dan proteinuria (Roberts & Hubel, 2009; Naljayan & Karumanchi, 2013).



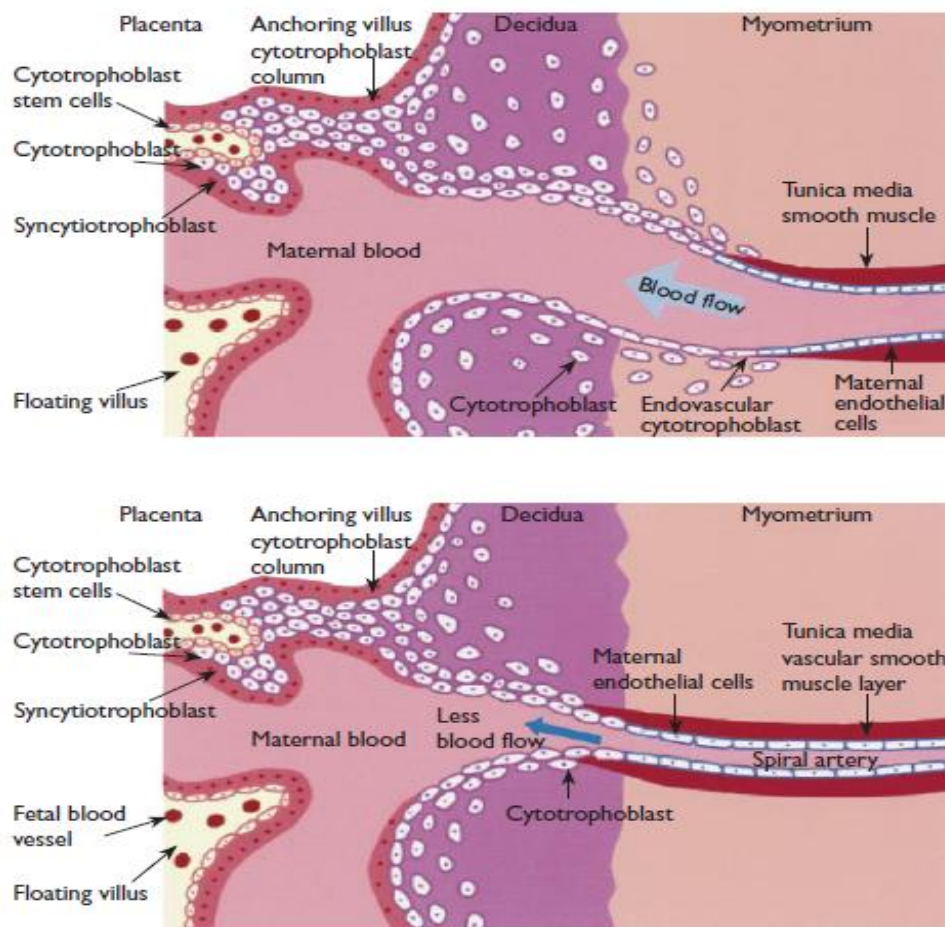
Gambar 2.2 . Ringkasan patogenesis preeklampsia (Naljayan & Karumanchi, 2013).

2.1.4.1 Plasentasi abnormal

Plasenta adalah pusat patogenesis preeklampsia. Preeklampsia hanya terjadi jika ada plasenta meskipun tidak terdapat janin misalnya pada molahidatidosa dan biasanya akan sembuh dengan sendirinya jika plasenta diangkat (Naljayan & Karumanchi, 2013). Pada kehamilan normal, sitotrofoblas menginvasi arteri spiralis uterus maternal, mengganti endotelnya dan berdiferensiasi menjadi *endothelial-like phenotype* (fenotip endotel). Proses ini mengakibatkan perubahan pada

pembuluh darah yang beresistensi tinggi dan diameter kecil menjadi pembuluh darah yang berkapasitas tinggi, resistensi rendah untuk mengakomodasi pengaliran adekuat darah maternal untuk perkembangan unit uteroplasental (Palei *et al*, 2013). Kegagalan sitotrofoblas abnormal untuk mengadopsi fenotip endotel yang invasif menyebabkan arteri spiralis hanya menginvasi secara dangkal sehingga menimbulkan iskemik plasenta (Park & Brewster, 2007). Kondisi ini menyebabkan plasentasi abnormal dimana invasi sitotrofoblas pada arteri terbatas hanya sampai desidua dan pada segmen arteri spiralis miometrium invasi sangat dangkal dan tidak menyebar. Diferensiasi plasentasi abnormal ini merupakan gangguan awal yang pada akhirnya menyebabkan iskemik plasenta (Yulianti, 2008). Pada preeklamsia tidak terjadi remodeling vaskular arteri spiralis fisiologis. Pada tingkat seluler, sitotrofoblas mengalami pseudovaskulogenesis dengan mengganti molekul adhesinya menjadi seperti sel vaskular (Naljayan & Karumanchi, 2013). Resistensi vaskular uterus meningkat pada pasien preeklampsia yang berakibat pada berkurangnya aliran darah plasenta (Kanasaki & Kalluri, 2009).

Plasentasi abnormal terjadi pada awal kehamilan dan menyebabkan iskemik plasenta (tahap I). Iskemik plasenta mensekresikan faktor yang dapat larut selama trimester ketiga yang pada gilirannya menginduksi disfungsi endotel sistemik dan sindrom maternal preeklampsia (Naljayan & Karumanchi, 2013).



Gambar 2.3. Perbandingan plasentasi pada kehamilan normal (atas) dan preeklampsia (bawah) (Park & Brewster, 2007).

1.1.4.2 Sindrom Maternal

Sebagai respon terhadap hipoksia plasenta, plasenta diduga menghasilkan faktor patogen yang masuk ke dalam aliran darah maternal dan bertanggung jawab terhadap disfungsi endotel dan manifestasi klinis termasuk hipertensi dan proteinuria (Palei *et al*, 2013; Park & Brewster, 2007). Sindrom maternal dan gambaran klinis preeklampsia disatukan dengan adanya disfungsi endotel sistemik dan mikroangiopati, dengan organ target otak (eklampsia), hati (sindrom HELLP) atau ginjal

(*glomerular endotheliosis*). Penelitian terbaru menunjukkan dugaan adanya ketidakseimbangan antara sirkulasi faktor-faktor pro-angiogenik dan anti-angiogenik dalam sirkulasi maternal (Naljayan & Karumanchi, 2013). Mamalia termasuk manusia memerlukan angiogenesis untuk memastikan *network* yang baik untuk suplai oksigen dan nutrien ke janin. Angiogenesis ini melibatkan berbagai macam faktor pro-angiogenik dan anti-angiogenik yang bekerja sama dalam perkembangan plasenta (Naljayan & Karumanchi, 2013; Palei *et al*, 2013; Kanasaki & Kalluri, 2009). Faktor pro-angiogeniknya adalah *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *placental growth factor* (PlGF) dan *tissue growth factor β -1* (TGF β -1) sedangkan faktor anti-angiogeniknya adalah *soluble fms-like tyrosine kinase-1* (sFlt-1) dan *soluble endoglin* (sEng) (Kanasaki & Kalluri, 2009; Naljayan & Karumanchi, 2013; Palei *et al*, 2013; Al-Jameil *et al*, 2014).

Pada preeklampsia terjadi peningkatan sirkulasi anti-angiogenik (sFlt-1 dan sEng) dan penurunan pro-angiogenik (VEGF dan PlGF) (Naljayan & Karumanchi, 2013; Palei *et al*, 2013). VEGF berperan penting untuk stabilisasi sel endotel dalam pembuluh darah matur dan mempertahankan kesehatan sel endotel pada ginjal, hati dan otak. VEGF menginduksi NO dan prostasiklin untuk menurunkan tonus vaskular dan tekanan darah (Cerdeira & Karumanchi, 2012). VEGF dan PlGF juga menginduksi angiogenesis, proliferasi sel endotel dan vaskulogenesis. PlGF berperan dalam stimulasi angiogenesis pada kondisi iskemik,

inflamasi dan penyembuhan luka serta berkontribusi terhadap aterosklerosis (Maynard & Karumanchi, 2011; Al-Jameil *et al*, 2014).

Salah satu reseptor VEGF dan PIGF adalah sFlt-1. Ketika sFlt-1 meningkat pada plasma maternal maka VEGF dan PIGF bebas yang bersirkulasi berkurang. Kondisi ini mencegah kemampuan VEGF dan PIGF untuk menstimulasi angiogenesis dan mempertahankan integritas endotel dengan menghambat efek vasodilatasinya (Al-Jameil *et al*, 2014; Palei *et al*, 2013). Pada ginjal, inaktivasi VEGF bebas dipercaya menyebabkan *glomerular endotheliosis* dan proteinuria (Cerdeira & Karumanchi, 2012). Hasil penelitian menunjukkan bahwa sFlt-1 dilepaskan dari vili plasenta dan sel trofoblas sebagai respon terhadap berkurangnya tegangan oksigen, sama dengan yang terjadi pada iskemik plasenta (Palei *et al*, 2013).

Soluble Flt-1 (sFlt-1) adalah protein anti-angiogenik *soluble endogen* yang bekerja dengan berikatan pada protein pro-angiogenik (VEGF dan PIGF) (Al-Jameil *et al*, 2014). Efek *in vitro* sFlt-1 adalah vasokonstriksi, disfungsi endotel dan menurunkan invasivitas sitotrofoblas (Maynard & Karumanchi, 2011). Peningkatan kadar sFlt-1 yang bersirkulasi pada tikus hamil, melalui infus sFlt-1, menyebabkan sindrom yang mirip dengan preeklampsia pada manusia yaitu hipertensi, proteinuria, *glomerular endotheliosis* dan menurunnya VEGF dan PIGF (Maynard & Karumanchi, 2011; Palei *et al*, 2014) serta menyebabkan gangguan pertumbuhan intrauterin (Naljayan & Karumanchi, 2013). Ekspresi berlebihan sFlt-1 adalah mekanisme utama yang

menghubungkan disfungsi plasenta dengan disfungsi endotel maternal (Maynard & Karumanchi, 2011; Naljayan & Karumanchi, 2013). Kadar sFlt-1 dalam darah berkorelasi dengan keparahan preeklampsia (Cerdeira & Karumanchi, 2012; Palei *et al*, 2014), meningkat beberapa minggu sebelum onset preeklampsia dan kembali normal dalam beberapa hari setelah persalinan (Maynard & Karumanchi, 2011). Beberapa faktor risiko preeklampsia juga berhubungan dengan peningkatan sFlt-1 seperti kehamilan multipel, molahidatidosa, trisomi 13 dan nulliparitas (Cerdeira & Karumanchi, 2012; Naljayan & Karumanchi, 2013). Sumber utama sFlt-1 dan sEng adalah sinsitiotrofoblas plasenta, khususnya *syncytial knots*. *Syncytial knots* diinduksi oleh hipoksia plasenta terutama pada plasenta preeklampsia. *Syncytial knots* dan *placental debris* dilepaskan ke dalam sirkulasi maternal yang menjadi sumber tambahan bagi peningkatan sFlt-1 dalam darah maternal di samping sekresi oleh plasenta (Naljayan & Karumanchi, 2013).

Soluble endoglin adalah bentuk kerucut (*truncated form*) dari endoglin (CD 105), sebuah reseptor permukaan sel untuk TGF- β 1 dan 3, yang berikatan dan bersifat antagonis terhadap TGF- β . *Soluble endoglin* (sEng) memperkuat kerusakan vaskular yang dimediasi oleh sFlt-1 pada tikus hamil, menginduksi sindrom seperti preeklampsia berat dengan gambaran sindrom HELLP (Maynard & Karumanchi, 2011). *Soluble endoglin* (sEng) adalah protein anti-angiogenik lain yang bekerja dengan menghambat signal TGF β -1 dalam pembuluh darah (Naljayan & Karumanchi, 2013). *Soluble endoglin* (sEng) mengganggu TGF- β dan

aktivasi eNOS sehingga menyebabkan disfungsi endotel. Pada percobaan menggunakan tikus yang diinjeksi dengan adenovirus yang kuat mengekspresikan sEng mengakibatkan proteinuria dan hipertensi yang lebih ringan daripada yang diekspresikan oleh sFlt-1. Akan tetapi, pada percobaan menggunakan adenovirus yang mengekspresikan secara kuat sEng dan sFlt-1 bersamaan maka akibat yang ditimbulkan lebih hebat yaitu proteinuria berat, hipertensi, pertumbuhan janin terhambat dan sindrom mirip HELLP. Konsentrasi serum sEng meningkat 2-3 bulan sebelum onset preeklampsia dan berhubungan dengan keparahan penyakit (Cerdeira & Karumanchi, 2012). Berdasarkan hal ini dinyatakan bahwa sFlt-1 dan sEng bekerja melalui mekanisme berbeda namun bersama-sama mengakibatkan disfungsi endotel (Cerdeira & Karumanchi, 2012).

1.2 Homosistein

Homosistein (Hcy) adalah asam amino yang mengandung sulfur, yang tidak menyatu ke dalam protein tetapi merupakan bentuk intermediet metabolisme protein pada konversi dari asam amino metionin ke sistein atau pada remetilasi ke bentuk metionin (Bock, 2007). Metionin merupakan asam amino esensial yang didapatkan dari makanan (diet protein) (Blom & Smulders, 2011; Wierzbicki, 2007). Konsentrasi homosistein plasma normal adalah 5-15 $\mu\text{mol/L}$ dengan nilai rata-rata 10 $\mu\text{mol/L}$ (Wierzbicki, 2007). Apabila terjadi kelainan metabolisme dan asupan metionin yang tinggi dalam waktu lama akan meningkatkan kadar tHcy

dalam plasma 15-25 $\mu\text{mol/L}$ bahkan dapat mencapai 200 $\mu\text{mol/L}$ (Laksmmana, 2006).

1.2.1 Metabolisme Homosistein

Homosistein merupakan bentuk intermediat metabolisme metionin dan dapat dimetabolisasi melalui 2 jalur biokimia yaitu remetilasi dan transsulfurasi.

1.2.1.1 Jalur Remetilasi

Metabolisme homosistein diinisiasi oleh konversi metionin menjadi *S-adenosyl methionine* (SAM), merupakan donor metil universal. Reaksi ini menggunakan *adenosyne tri phosphate* (ATP) dan dikatalisis oleh enzim *methionine adenosyl transferase* (MAT). SAM mendonasikan kelompok metil untuk dimanfaatkan dalam semua reaksi metilasi kecuali remetilasi homosistein (Joseph & Loscalzo, 2013; Forges, Barbarino, Alberto, Rodriguez, Davae & Gueant, 2007).

Metilasi glisin menjadi sarkosin dikatalisis oleh *glycine N-methyl transferase* (GNMT) yang mengatur kadar SAM dan dengan cara demikian memberikan persediaan kelompok metil. *S-adenosyl homocysteine* (SAH), dihasilkan oleh perpindahan kelompok metil, dihidrolisis oleh *S-adenosyl homocysteine hydrolase* (SAHH), yang mengatalisis hidrolisis SAH untuk menghasilkan adenosin dan homosistein (transmetilasi enzimatik) (Blom & Smulders, 2011; Joseph & Loscalzo, 2013).

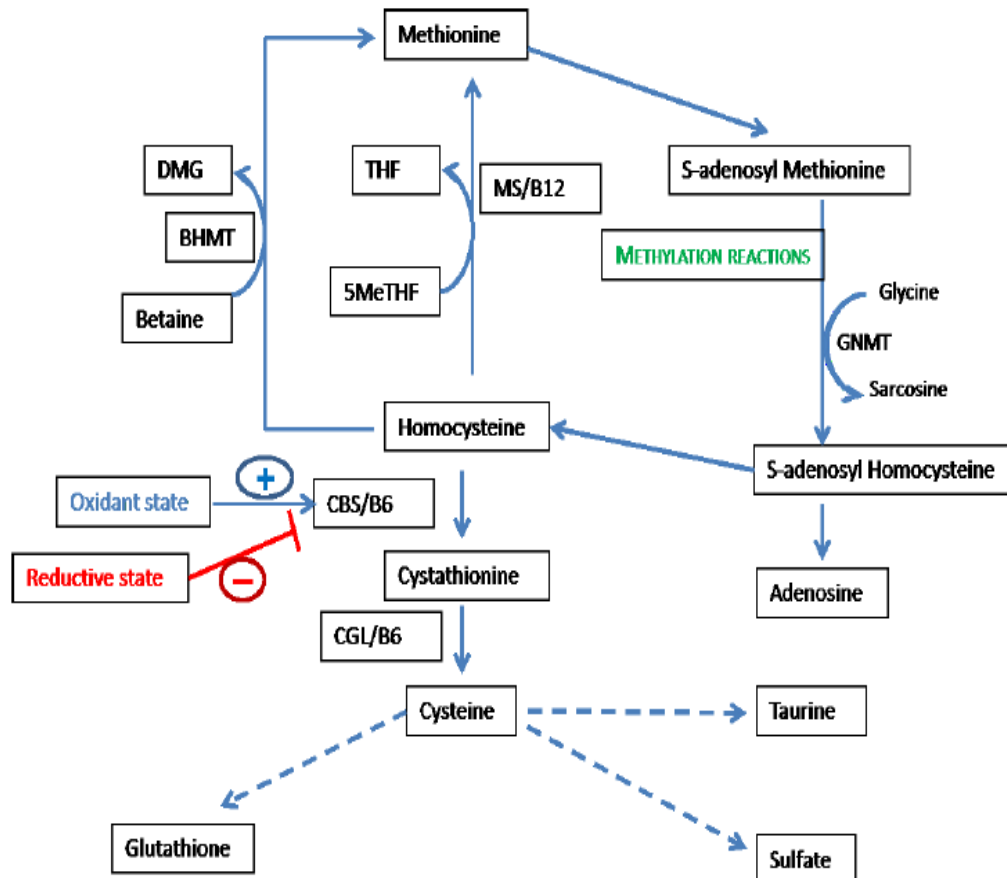
Remetilasi dapat terjadi dengan dukungan kelompok metil melalui dua reaksi. Reaksi pertama melalui enzim *methionine synthase* (MS) yang

tergantung pada vitamin B12 sebagai kofaktor yang mengkatalisis donasi kelompok metil dari *5'-methyltetrahydrofolate* (5MeTHF) sebagai substrat untuk mengkonversi homosistein menjadi metionin (Joseph & Loscalzo, 2013; Wierzbicki, 2007). Jalur lain remetilasi dikatalisis oleh *betaine homocysteine methyl transferase* (BHMT), yang menggunakan *betaine* sebagai donor metil (Joseph & Loscalzo, 2013; Dasarathy *et al*, 2010). Remetilasi dengan enzim *methyonine synthase* melibatkan siklus folat dan terjadi hampir di semua sel, sementara itu sistem remetilasi homosistein yang lain, *betaine-homocysteine methyltransferase* (BHMT) terutama diekspresikan di hati dan ginjal (Blom & Smulders, 2011; Karolczak & Olas, 2009).

1.2.1.2 Jalur Transsulfurasi

Transsulfurasi difasilitasi oleh aksi dua enzim tergantung vitamin B₆ sebagai kofaktor yaitu *cystathionine β -synthase* (CBS) dan *cystathionine γ -lyase* (CGL) (Refsum *et al*, 1998; Joseph & Loscalzo, 2013). *Cystathionine β -synthase* mengkatalisis kondensasi homosistein dan *serine* menjadi *cystathionine* dan selanjutnya CTH mengkatalisis hidrolisa *cystathionine* menjadi *cysteine* dan α -ketobutirat. Kelebihan *cysteine* dioksidasi menjadi taurin atau sulfat atau dikeluarkan dari tubuh (Wierzbicki, 2007; Joseph & Loscalzo, 2013). *Cystathionine γ -lyase* manusia diekspresikan di hati, ginjal, otot, otak, ovarium dan selama embriogenesis awal pada sistem saraf dan jantung. Selain berperan dalam sintesis protein, *cysteine* adalah prekursor *glutathione*, antioksidan kuat

dan bahan esensial dalam detoksifikasi berbagai *xenobiotics* (Blom & Smulders, 2011).



Gambar 2.4. Metabolisme homosistein; THF—*tetrahydrofolate*; 5MeTHF—*5' methyl tetrahydrofolate*; BHMT—*betaine homocysteine methyltransferase*; DMG—*dimethyl glycine*; MS—*methionine synthase*; GNMT—*glycine N-methyl transferase*; CGL—*cystathionine γ -lyase*; CBS—*cystathionine β synthase* (Joseph & Loscalzo, 2013).

1.2.2 Hiperhomosisteinemia

Homosistein sangat mudah mengalami reduksi atau oksidasi yang menghasilkan akumulasi asam Hcy (HCA) sehingga yang ditemukan dalam sirkulasi dalam bentuk HCA dan kompleks dengan sistein atau protein. Istilah Hcy total merupakan semua bentuk Hcy baik yang derivat Hcy maupun yang

terikat dengan protein. Hiperhomosisteinemia adalah istilah yang menggambarkan peningkatan kadar tHcy $> 15 \mu\text{mol/L}$ (Karolczak & Olas, 2009). Dikatakan ringan/*mild* jika kadarnya $15-30 \mu\text{mol/L}$, dengan prevalensi 5-10% populasi. Penyebab tHcy ringan antara lain gaya hidup yang tidak sehat, diet vegetarian, terganggunya fungsi ginjal, defisiensi ringan folat atau vitamin B12 dan polimorfis MTHFR 677C \rightarrow T. Hiperhomosisteinemia sedang/*moderate* bila ditemukan kadar tHcy $30-100 \mu\text{mol/L}$. Kondisi ini ditemukan kira-kira $<1\%$ dari populasi. Defisiensi sedang sampai berat dari folat atau vitamin B12 dan gagal ginjal menjadi penyebab hiperhomosisteinemia sedang. Hiperhomosisteinemia berat/*severe* didefinisikan sebagai konsentrasi tHcy $> 100 \mu\text{mol/L}$ dan terjadi 0,02% dari populasi. Keadaan ini terjadi pada individu dengan homosisteinuria atau defisiensi berat vitamin B12 (Refsum *et al*, 2004).

Hiperhomosisteinemia dapat disebabkan oleh:

1.2.2.1 Umur dan jenis kelamin

Perempuan mempunyai kadar tHcy yang lebih rendah dibandingkan laki-laki dan meningkat sesuai dengan usia. Hal ini mungkin disebabkan oleh status vitamin dan pengaruh hormon seks. Homosistein total (tHcy) meningkat setelah menopause dibandingkan dengan laki-laki. Perbedaan jenis kelamin berhubungan dengan formasi *stoichiometric* Hcy dalam hubungannya dengan kreatinin/sintesis kreatinin yang proporsional terhadap massa otot, oleh karena itu homosistein pada laki-laki lebih tinggi dibandingkan wanita (Refsum *et al*, 1998). Setelah pubertas, laki-laki mempunyai rata-rata konsentrasi Hcy lebih tinggi daripada wanita. Perbedaan karena jenis kelamin ini

rata-rata $< 2 \mu\text{mol/L}$, tetapi perbedaan ini menjadi sedikit seiring dengan meningkatnya usia (Refsum *et al*, 2004).

1.2.2.2 Fungsi ginjal dan kreatinin

Terdapat korelasi positif antara homosistein dan kreatinin serum, walaupun mekanismenya belum jelas. Fungsi ginjal sangat menentukan kadar homosistein. Hal ini berhubungan dengan klirens Hcy melalui metabolisme ginjal daripada ekskresi urin yang sedikit. Penurunan fisiologi fungsi ginjal berhubungan dengan faktor umur (Refsum *et al*, 2004).

1.2.2.3 Gaya hidup dan nutrisi

Asupan vitamin B6, B12 dan folat berbanding terbalik dengan tHcy plasma. Homosistein akan meningkat pada defisiensi folat dan kedua vitamin ini. Merokok dan minum kopi menyebabkan perubahan distribusi tHcy ke arah yang lebih tinggi (Refsum *et al*, 1998; Refsum *et al*, 2006))

2.2.2.4. Genetik

Homosisteinuria biasanya mengacu pada *inborn errors* metabolisme tHcy yang berhubungan dengan hiperhomosisteinemia berat. Penyebab yang paling sering adalah homozigositas defisiensi CBS, dengan prevalensi saat lahir 1/300.000. Penyebab yang sangat jarang adalah defek berat MTHFR dan gangguan remetilasi Hcy karena metabolisme kobalamin *inborn errors*. Heterozigot defisiensi CBS kira-kira $< 1\%$ dari populasi. Pada penderita ini biasanya mempunyai kadar puasa tHcy normal, tetapi kadar *postmethionine load* (PML) tHcy meningkat.

Penelitian genetik terbaru menunjukkan heterozigositas defisiensi CBS hanya terjadi secara sporadis pada pasien gangguan vaskular dan mengesankan bahwa defek genetik ringan ini tidak sering menyebabkan hiperhomosisteinemia pada pasien ini. Mutasi C677T pada gen MTHFR menunjukkan perbedaan etnis dengan frekuensi alel yang tinggi sekitar 40% (10% TT genotip) pada ras Kaukasia, sebaliknya hampir tidak ada pada ras Afrika-Amerika. Polimorfisme menyebabkan termolabilitas dan aktivitas enzim berkurang sehingga menyebabkan hiperhomosisteinemia sedang dan berat di bawah pengaruh status folat yang rendah. Dosis harian folat 0,2 mg akan mampu mempertahankan kadar normal tHcy pada kebanyakan pasien ini (Refsum *et al*, 1998).

2.2.2.5 Penyakit dan obat-obatan

Defisiensi folat dan kobalamin sering menyebabkan hiperhomosisteinemia pada populasi umum. Peningkatan kadar tHcy juga terjadi pada gagal ginjal dan berbagai kondisi klinis lainnya. Hiperhomosisteinemia diinduksi oleh obat-obat tertentu. *Aminothiols like penicillamine* dan *acetylcysteine* mengurangi kadar tHcy plasma (Refsum *et al*, 1998).

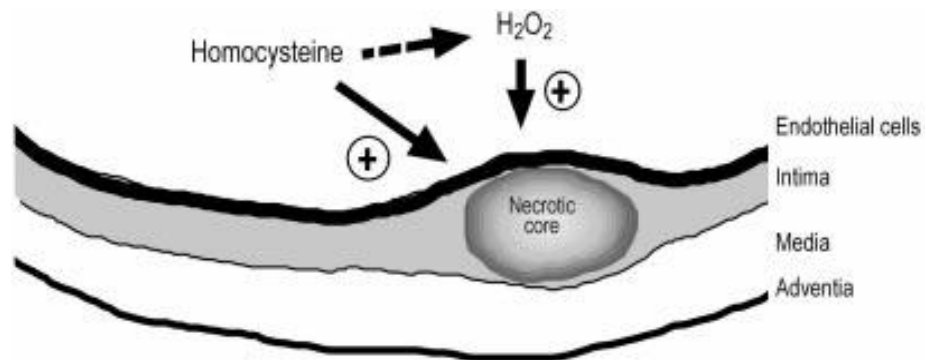
2.2.3 Patogenesis Hiperhomosisteinemia

Penelitian klinis dan eksperimen menunjukkan bahwa kadar homosistein yang tinggi cenderung memberikan respons aterogenik dan trombosis pada pasien hiperhomosisteinemia dan homosisteinuria. Mekanisme pasti keadaan ini belum sepenuhnya diketahui, namun beberapa mekanisme mungkin berperan:

2.2.3.1 Efek pada sel endotel

Pada tingkat seluler, peran patologis homosistein berhubungan dengan perubahan sel endotel. Sel endotel sangat sensitif terhadap peningkatan ringan kadar homosistein. Sel endotel manusia tidak mengekspresikan bentuk aktif sistationin β -sintase dan konsekuensinya adalah tidak dapat menginisiasi katabolisme homosistein melalui jalur transsulfurasi. Peningkatan kadar homosistein akan merubah fungsi karakter permukaan endotel vaskular dari antikoagulan menjadi prokoagulan. Jalur antikoagulan endotel berdasarkan pada interaksi *heparin-like glycosaminoglycan-antithrombin III* (Karolczak & Olan, 2009).

Homosistein menurunkan bioavailabilitas NO, salah satu vasodilator utama tergantung-endotel yang dihasilkan oleh *endothelial isoform of nitric oxide synthase* (eNOS). Efek ini disebabkan oleh akselerasi inaktivasi oksidasi NO dan/atau eNOS atau peningkatan serum *assymetric dimethylarginine* (ADMA), inhibitor endogen eNOS (Forges *et al* , 2007). Nitrit oksida dikenal sebagai faktor yang utama yang mempengaruhi sistem vaskular manusia. Nitrat oksida berhubungan dengan sejumlah penyakit kardiovaskular dan penyakit lain yang berhubungan dengan penurunan NO pada endotel (Karolczak & Olan, 2009).



Gambar 2.5. Homosistein menyebabkan kerusakan vaskular langsung atau melalui timbulnya ROS (Medina, MA; Urdiales, JL; Amores-Sanchez, MI, 2001).

Molekul utama yang bertanggung jawab terhadap penurunan NO pada pasien hiperhomosisteinemia adalah ROS. Homosistein dapat meningkatkan produksi ROS pada reaksi yang dikatalisis oleh NADPH oksidase (Karolczak & Olas, 2009). Banyak bukti menunjukkan bahwa hiperhomosisteinemia berhubungan dengan produksi ROS pada endotel dan sel otot polos. Mekanisme stres oksidatif ini bersandar pada auto-oksidasi dari reaksi tinggi homosistein kelompok thiol atau pada formasi superoksida intraseluler dan radikal peroksil dengan hambatan yang bersamaan enzim antioksidan seluler seperti superoksida dismutase dan glutathion peroksidase (Forges *et al*, 2007).

Homosistein juga menginduksi inflamasi vaskular dengan meningkatkan ekspresi sitokin pro-inflamasi seperti *monocyte chemoattractant protein 1* (MCP-1) yang mengatur migrasi dan aktivasi monosit/makrofag dan IL-8, yang merupakan kemoatraktan penting untuk netrofil dan limfosit-T (Forges *et al*, 2007).

Konsep terkini tentang aktivasi *unfolded protein response* (UPR) yang dipicu ketika protein yang tidak melipat atau pelipatan yang salah

berakumulasi dalam retikulum endoplasma (RE). Pada kasus stres RE yang berkepanjangan, UPR memperluas aktivasi apoptosis oleh berbagai jalur sinyal. Sel endotel yang terpapar homosistein *in vitro* akan menginduksi pelipatan protein yang salah dalam RE dengan meningkatkan potensial redoks lokal dan bercampur dengan bentuk ikatan disulfida. Homosistein selanjutnya mengaktivasi UPR dan menghentikan pertumbuhan dan apoptosis sel endotel (Forges *et al*, 2007).

2.2.3.2 Efek pada trombosit

Efek langsung Hcy pada trombosit masih belum jelas dan kadang-kadang kontroversi. Penelitian pada pasien diabetes menunjukkan kadar Hcy yang tinggi berhubungan dengan agregasi trombosit. Beberapa penelitian menunjukkan homosistein meningkatkan pelepasan asam arakidonat, pembentukan tromboksan A₂ dan fosforilasi protein tirosin dalam trombosit. Peningkatan total Hcy berhubungan dengan peningkatan aktivasi trombosit pada lokasi luka mikrovaskular. Trombosit juga dapat menyebabkan *reactive oxygen/nitrogen species* (ROS/RNS) berbeda yang menunjukkan reaksi sebagai *second messangers* dan mengatur fungsi trombosit. Beberapa sumber ROS diduga berasal dari trombosit. Sumber intraseluler ROS dalam trombosit adalah jalur asam arakidonat (melalui siklooksigenase atau 12-lipooksigenase) distimulasi oleh agonis berbeda yaitu siklus glutation dan metabolisme *phosphoinositides* (Karolczak & Olas, 2009). Sumber ROS yang paling banyak pada trombosit berasal dari aktivasi NAD(P)H *oxydase* dan *xanthine oxydase*. Pada pasien diabetes tipe 2 dengan Hcy plasma yang tinggi berhubungan

dengan peningkatan kadar ROS trombosit dan penurunan pembentukan NO pada trombosit (Karolczak & Olan, 2009).

2.2.3.3 Efek pada koagulasi dan fibrinolisis

Fibrinogen dan protein plasma lain dapat dimodifikasi oleh Hcy. Hcy dapat merubah fibrinogen dan faktor XIII. Hcy mempertinggi ikatan lipoprotein dengan fibrin dan hal ini menunjukkan hubungan antara metabolisme senyawa thiol, trombosis dan aterogenesis. Peningkatan risiko penyakit kardiovaskular pada hiperhomosisteinemia juga berhubungan dengan peningkatan kadar faktor VIII. Penelitian pada tikus menemukan penurunan aktivitas fungsional faktor XII, X dan II pada hiperhomosisteinemia yang diinduksi oleh defisiensi folat, sementara aktivitas faktor VII tidak berubah. Kadar homosistein plasma berkorelasi dengan faktor VIIa pada pasien dengan sindrom koroner akut. Perubahan ini meningkatkan risiko trombosis pada pasien hiperhomosisteinemia (Karolczak & Olan, 2009).

2.2.4 Homosistein pada kehamilan normal dan preeklampsia

Kadar serum homosistein maternal turun pada kehamilan normal. Penurunan plasma tHcy dimulai pada awal trimester pertama dan mencapai titik nadir pada trimester kedua (Megahed & Taher, 2005; Saha *et al.*, 2009). Hal ini disebabkan oleh respon fisiologis terhadap kehamilan, peningkatan estrogen, hemodilusi karena peningkatan volume plasma atau peningkatan permintaan metionin oleh ibu dan janin (Ingec, Borekci, & Kadanali, 2005; Megahed & Taher, 2005).

Kortisol dan estrogen menyebabkan peningkatan enzim Hcy-*methyltransferase* pada hepar dan metionin sintase pada ginjal yang menghasilkan peningkatan remetilasi dari homosistein menjadi metionin (Ubeda *et al*, 2011) 2006; Laksmana, 2006). Penelitian lain menemukan bahwa perbedaan kadar tHcy antara vena umbilikalis dengan darah arteri, mengindikasikan metabolisme dan *uptake* homosistein janin. Penemuan ini konsisten dengan peningkatan aktivitas enzim metionin sintase. Pada hati janin, tidak ada aktivitas enzim sistationase yang terdeteksi dan aktivitas enzim sistation sintase hanya 20% dari kadar dewasa. Hal ini mengindikasikan bahwa transmetilasi lebih aktif daripada transsulfurasi pada janin (Tamura & Picciano, 2006).

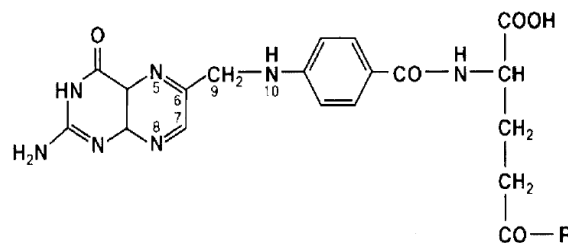
Peningkatan konsentrasi homosistein berhubungan dengan disfungsi endotel yang menjadi pusat patofisiologi preeklampsia (Hoque *et al*, 2008). Peningkatan plasma homosistein terjadi pada 20-30% wanita dengan preeklampsia (Rodrigo *et al.*, 2005). Pada wanita dengan preeklampsia, konsentrasi homosistein meningkat selama kehamilan (Tamura & Picciano, 2006) dan postpartum (Isber, 2006). Plasma tHcy tidak meningkat sebelum gejala klinis preeklampsia muncul, tetapi terjadi peningkatan yang sangat cepat sekali saat timbul gejala. Peningkatan tHcy saat kehamilan 15 minggu berhubungan dengan peningkatan risiko preeklampsia (Tamura & Picciano, 2006).

Mekanisme peningkatan kadar homosistein pada preeklampsia masih belum jelas (Saha *et al*, 2009; Karunashree *et al*, 2014). Diperkirakan insufisiensi ginjal (Mujawar *et al*, 2011), penurunan pembentukan metionin dari homosistein, kelainan metabolisme homosistein pada hati, penurunan remetilasi di seluruh tubuh dan berkurangnya vitamin B menjadi penyebab hiperhomosisteinemia pada preeklampsia (Ubeda *et al*, 2011).

2.3 Asam Folat

2.3.1 Struktur dan Fungsi Asam Folat

Folat adalah senyawa asam folat yang terjadi secara alamiah dalam makanan dan merupakan bahan nutrisi esensial dalam diet manusia. Folat adalah bagian dari kelompok vitamin B kompleks, terdiri dari sebuah cincin pteridin, *para-aminobenzoic acid* dan asam glutamat. Folat direduksi secara alamiah menjadi tetrahidrofolat dengan hidrogen pada posisi 5, 6, 7 dan 8 atau menjadi dihidrofolat dengan hidrogen pada posisi 7 dan 8. Folat juga mempunyai unit 1 karbon (*methyl, methylene, methenyl, formyl* atau *formimino*) pada posisi N-5 atau N-10 atau keduanya. Folat paling banyak sebagai folat poliglutamil dengan rantai γ -linked berhubungan pada asam glutamat (Tamura & Picciano, 2006; Thaler, 2014).



Gambar 2.6. Struktur asam folat (Tamura & Picciano, 2006)

Asam folat adalah senyawa sintetis dengan residu monoglutamat pada akhir kelompok karboksil; *pteroyl glutamate*, merupakan bentuk yang paling stabil dari folat. Semua senyawa aktif vitamin ini, baik alami maupun sintetis disebut dengan istilah folat. Istilah asam folat hanya digunakan untuk bentuk vitamin sintetis. Asam folat mudah diserap, penyerapan senyawa folat ini berbeda setiap individu, sementara ketersediaan folat dari makanan terbatas dan sulit untuk menilai berdasarkan individu. Bioavailabilitas seseorang terhadap folat pada makanan terutama dipengaruhi oleh rasio mono- dan poliglutamat dengan availabilitas rata-rata sekitar 50% dalam campuran makanan. Oleh karena folat

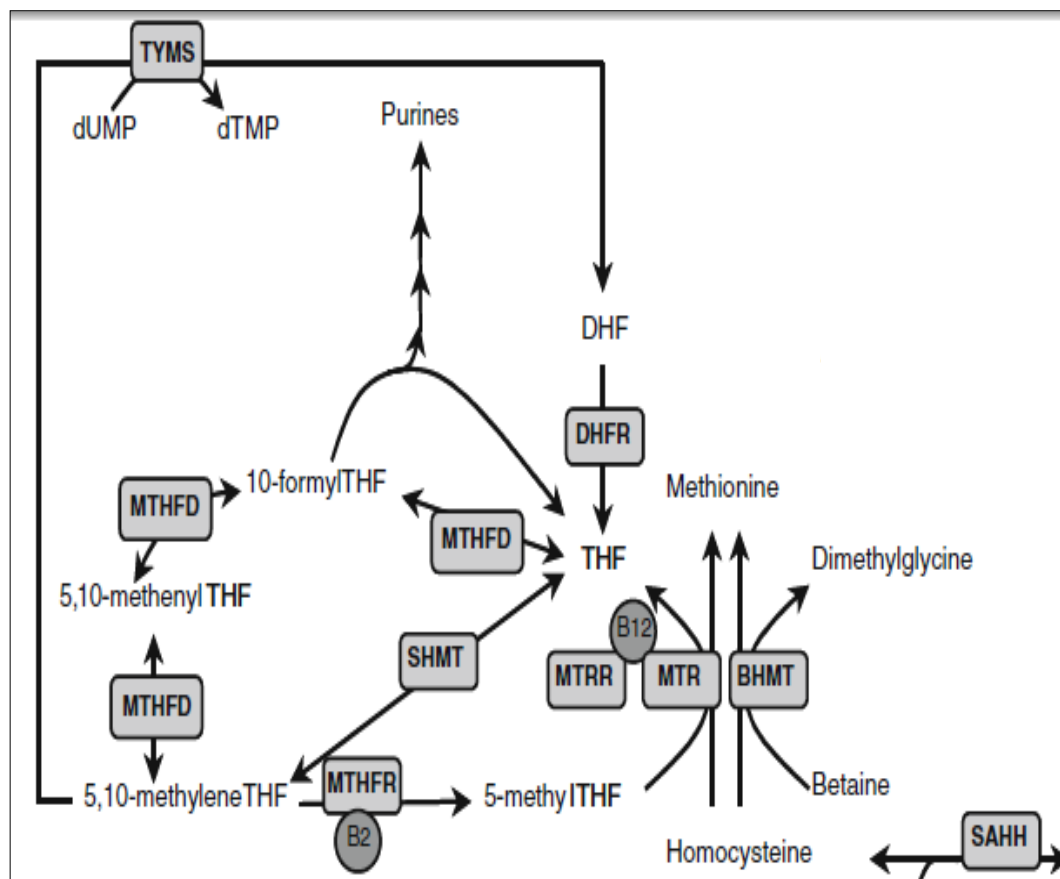
mempunyai kelarutan dalam air dan sensitivitas tinggi terhadap panas dan cahaya, maka penyimpanan yang lebih lama dan pemanasan berulang menyebabkan kehilangan aktivitas folat yang tinggi (Thaler, 2014).

Folat berfungsi dalam berbagai reaksi transfer satu-karbon, termasuk biosintesis *purine* dan *thymidylate*, metabolisme asam amino, dan oksidasi. Biosintesis *purine* dan *thymidylate* adalah proses penting yang mendasari sintesis DNA dan RNA. Plasma total homosistein tergantung pada status folat (Tamura & Picciano, 2006). Selain itu folat juga berguna untuk pertumbuhan dan reproduksi sel, menghasilkan asam hidroklorat, berperan pada fungsi hati, pembentukan asam nukleat dan pembentukan sel darah merah (Mayer, Tucker, & Williams, 2011).

2.3.2 Siklus folat

Di dalam intrasel, 5-methylTHF berfungsi sebagai donor metil untuk remetilasi homosistein. *Tetrahydrofolate* (THF) dapat langsung dikonversi menjadi 5,10-methyleneTFH dengan enzim *serine hydroxymethyltransferase* (SHMT). *Serine hydroxymethyltransferase* adalah enzim yang tergantung vitamin B6 yang menggunakan serine sebagai donor satu-karbon. Konversi THF menjadi 5,10-methyleneTHF, melalui 10-formylTHF dan 5,10-methenylTHF, dikatalisis oleh aktivitas enzim trifungsional *methylenetetrahydrofolate dehydrogenase* (MTHFD1) yang mempunyai *formyltetrahydrofolate synthetase*, *methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase* dan *methylenetetrahydrofolate dehydrogenase*. 10-formylTHF dapat mendonasikan kelompok satu-karbon untuk biosintesis purin, sementara 5,10-methylenetetrahydrofolate dapat digunakan sebagai kofaktor untuk konversi *deoxyuridine monophosphate* (dUMP) menjadi *deoxythymidine monophosphate* (dTMP). Reaksi ini dikatalisis oleh

enzim *thymidylate synthase* (TYMS) dan menghasilkan *dihydrofolate* (DHF), yang memerlukan reduksi selanjutnya menjadi THF oleh enzim *dihydrofolate reductase* (DHFR). Selain menjadi kosubstrat bagi sintesis dTMP, 5,10-*methylene*THF juga dapat direduksi menjadi 5-*methyl*THF oleh enzim *methylenetetrahydrofolate reductase* (MTHFR) yang tergantung riboflavin (vitamin B2), yang bersaing untuk 5,10-*methylene*THF dengan TYMS. Fungsi enzim MTHFR sangat penting untuk regulasi ketersediaan 5-*methyl*THF untuk remetilasi homosistein (Blom & Smulders, 2011).



Gambar 2.7. Siklus folat (Blom & Smulders, 2011); *DHF*: *dihydrofolate*, *DHFR*: *dihydrofolate reductase*, *dUMP*: *deoxyuridine monophosphate*, *dTMP*: *deoxythymidine monophosphate*, *MTHFD*: *methylenetetrahydrofolate dehydrogenase/methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase/formyltetrahydrofolate synthetase*, *MTHFR*: *methylenetetrahydrofolate reductase*, *MTR*: *methionine synthase*, *MTRR*: *methionine synthase reductase*, *SHMT*: *serine-hydroxymethyltransferase*, *THF*: *tetrahydrofolate*, *TYMS* *thymidylate synthase*

2.3.3 Kebutuhan dan Asupan Folat dalam Kehamilan

Sebuah penelitian yang dilakukan oleh *National Health and Nutrition Examination Survey* (1989 –1991) di Amerika Serikat mengindikasikan rata-rata kebutuhan folat wanita usia melahirkan adalah 230 µg/hari. Berdasarkan hal ini direkomendasikan kebutuhan folat menjadi 600 DFE atau 450 µg/hari (DFE = *dietary folat equivalents*, 1DFE=1µg folat makanan atau 0.6 µg asam folat). Hal ini dilakukan dengan mempertimbangkan bioavailabilitas folat makanan dan asam folat. Rekomendasi ini didukung oleh penelitian yang menyatakan pemberian 450 µg/hari cukup untuk mempertahankan status folat yang adekuat pada wanita hamil. Berdasarkan hal di atas, diperkirakan asupan folat harian sebesar 400 µg/hari cukup untuk wanita hamil (Tamura & Picciano, 2006). Sementara di Indonesia dianjurkan penambahan folat 200 µg/hari untuk wanita hamil dan menyusui (Departemen Kesehatan RI, 2005).

Sumber folat utama dapat diperoleh melalui konsumsi sayuran berdaun hijau, kacang polong, produk susu, daging ayam, makanan laut, padi-padian utuh, hati, jus jeruk, produk gandum yang diperkaya nutrient dan sereal yang diperkaya nutrien (Herbold & Edelstein, 2011).

2.3.4 Asam Folat Pada Kehamilan Normal dan Preeklampsia

Peningkatan kebutuhan folat selama kehamilan diperlukan untuk pertumbuhan janin dan organ uteroplasenta (Tamura & Picciano, 2006). Asupan harian folat tidak dapat memenuhi kebutuhan peningkatan folat dalam kehamilan, oleh karena itu ibu hamil membutuhkan suplementasi folat yang tinggi (Holmes *et al*, 2005). Peningkatan katabolisme dan ekskresi folat melalui urin menyebabkan peningkatan kebutuhan folat dalam kehamilan, tetapi hal ini masih

kontroversi (Tamura & Picciano, 2006). Katabolisme folat meningkat secara signifikan selama kehamilan dan mencapai puncaknya pada trimester ketiga dan menurun dengan tajam pada hari-hari menjelang persalinan (Megahed & Taher, 2005).

Konsentrasi folat maternal menurun dari kehamilan 5 bulan dan terus berlanjut sampai 1 bulan postpartum (Megahed & Taher, 2005). Pada wanita hamil tanpa suplementasi asam folat terjadi penurunan berkisar 10 nmol/L (dari 20-10 nmol/L) selama 40 minggu kehamilan (Tamura & Picciano, 2006). Oleh karena itu suplementasi asam folat sangat penting untuk mencegah *outcome* kehamilan yang buruk (Megahed & Taher, 2005). Penurunan ini sebagai respon fisiologis terhadap kehamilan dengan mekanisme yang belum jelas. Pola perubahan dalam folat eritrosit bervariasi, terjadi penurunan pada awal kehamilan diikuti oleh sedikit peningkatan pada pertengahan kehamilan. Penyebab penurunan ini adalah peningkatan permintaan folat untuk pertumbuhan janin dan organ uteroplasenta, dilusi folat karena penambahan volume darah, peningkatan katabolisme folat, peningkatan klirens dan ekskresi folat, penurunan absorpsi folat, pengaruh hormonal pada metabolisme folat sebagai respon fisiologis terhadap kehamilan dan asupan folat yang rendah (Tamura & Picciano, 2006)

Patogenesis preeklampsia tahap 1 dimulai dengan plasentasi abnormal diantaranya berhubungan dengan nutrisi. Salah satu nutrisi yang dianjurkan adalah asam folat (Salehi-PourMehr *et al* , 2012). Folat sangat penting untuk biosintesis DNA dan RNA serta diperlukan untuk metabolisme homosistein (Holmes *et al*, 2005). Selain itu, folat juga dibutuhkan untuk reaksi enzimatik, multiplikasi sel dan proses diferensiasi. Dalam kaitannya dengan keberhasilan kehamilan, asam

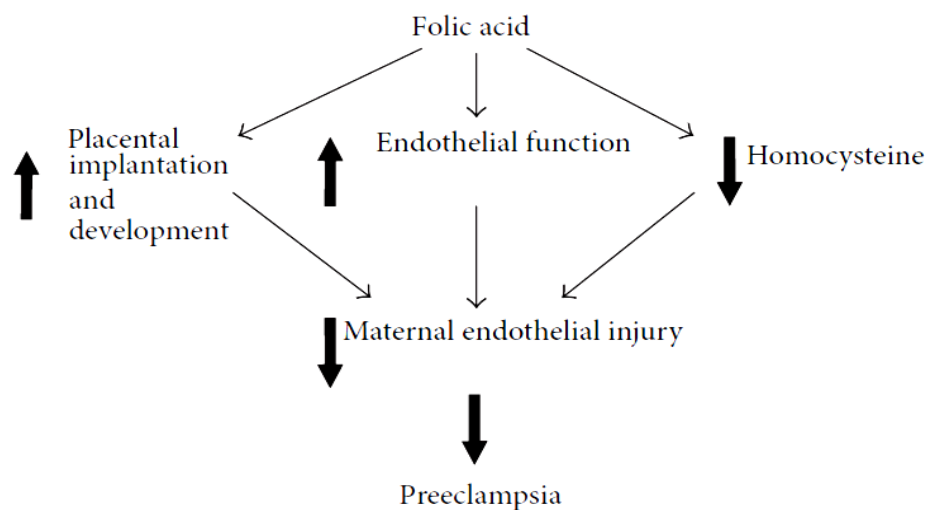
folat berperan penting dalam berbagai jalur fisiologis yaitu angiogenesis dan vaskulogenesis, metabolisme homosistein, perlindungan antioksidan dan relaksasi vaskular tergantung endotel. Proses ini berperan penting untuk menjamin sirkulasi fetoplasenta sehingga tercapai luaran kehamilan yang baik (Williams *et al*, 2011).

Plasentasi yang baik memerlukan invasi trofoblas ekstravilus sempurna ke dalam arteri spiralis uterus ibu (Cunningham *et al*, 2010). Perubahan arteri spiralis dari pembuluh darah yang berkapasitas rendah dengan resistensi tinggi menjadi berkapasitas tinggi dengan resistensi rendah memungkinkan transportasi sejumlah besar darah ke ruangan intervilus (Park & Brewster, 2007). Pada usia kehamilan 8 – 12 minggu, sumbatan trofoblas yang berakumulasi pada arteri spiralis dilepaskan sehingga merusak sel endotel selanjutnya terjadi apoptosis, invasi dan modifikasi lapisan tunika muskularis media (Cunningham *et al*, 2010). Perfusi tiba-tiba vilus plasenta saat awal sirkulasi maternal-plasental berhubungan dengan timbulnya stres oksidatif. Asam folat mempunyai aktivitas antioksidan lokal pada sel endotel dan secara langsung mampu menangkap radikal bebas dan meningkatkan bioavailabilitas nitrat oksida (Williams *et al*, 2011).

Bersamaan dengan keberhasilan sirkulasi maternal-plasental, plasenta juga harus membangun sirkulasinya sendiri. Sel endotel berdiferensiasi dari sel mesenkin, membentuk kapiler-kapiler pertama dari pembuluh darah plasenta janin (Williams *et al*, 2011). Perkembangan sirkulasi plasenta memerlukan vaskulogenesis (pembentukan pembuluh darah baru dari sel prekursor primitif) dan angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang sudah ada sebelumnya) (Uzan *et al*, 2011). Angiogenesis plasenta adalah hal penting untuk perkembangan sirkulasi plasenta normal. Asam folat mempunyai

kemampuan untuk menginduksi angiogenesis melalui mekanisme tergantung nitrat oksida (Williams *et al*, 2011).

Dengan demikian asam folat menurunkan risiko preeklampsia melalui beberapa cara, diantaranya suplementasi asam folat mengurangi homosistein plasma yang berhubungan dengan preeklampsia, meningkatkan fungsi sel endotel sebagai salah satu agen patogen preeklampsia (Salehi-PourMehr *et al*, 2012; Wen *et al*, 2013) dan berhubungan dengan perkembangan dan implantasi plasenta (Wen *et al*, 2013). Perkembangan dan implantasi plasenta yang baik adalah hal penting untuk kesehatan dan kesejahteraan janin dan ibu. Perkembangan/pertumbuhan plasenta adalah periode peningkatan diferensiasi dan proliferasi sel. Oleh karena itu, asupan folat yang lebih tinggi diperlukan untuk mendukung implantasi plasenta dan pertumbuhan serta perkembangan pada awal kehamilan (Wen, *et al.*, 2013).



Gambar 2.8. Mekanisme asam folat dalam menurunkan risiko preeklampsia (Wen *et al*, 2013).

2.4 Hubungan Asam Folat dengan Homosistein

Salah satu penyebab terjadinya hiperhomosisteinemia adalah rendahnya asupan vitamin B yang berperan dalam metabolisme homosistein yaitu asam folat, vitamin B6 dan B12. Kadar homosistein total dalam plasma atau serum adalah indikator yang sensitif untuk defisiensi folat dan vitamin B12 (Refsum *et al*, 1998). Dalam keadaan keseimbangan metionin negatif, homosistein terutama diatur melalui dua jalur penghematan metionin. Pada hati, homosistein diremetilasi oleh enzim *betaine-homocysteine methyltransferase* (BHMT). Pada kebanyakan jaringan, remetilasi homosistein dikatalisis oleh enzim *methionine synthase* (MS) menggunakan vitamin B12 sebagai kofaktor dan *methyltetrahydrofolate* sebagai substrat. Jika satu atau lebih jalur metabolisme homosistein terhambat karena kekurangan enzim atau defisiensi vitamin maka homosistein berakumulasi, selanjutnya menyebabkan peningkatan kadar homosistein dalam plasma (Blom & Smulders, 2010; Refsum *et al*, 1998). Hiperhomosisteinemia merupakan faktor risiko penyakit vaskular perifer, serebral dan koroner (Refsum *et al*, 1998). Hiperhomosisteinemia dapat menyebabkan perubahan sirkulasi plasenta (Tamura & Picciano, 2006).

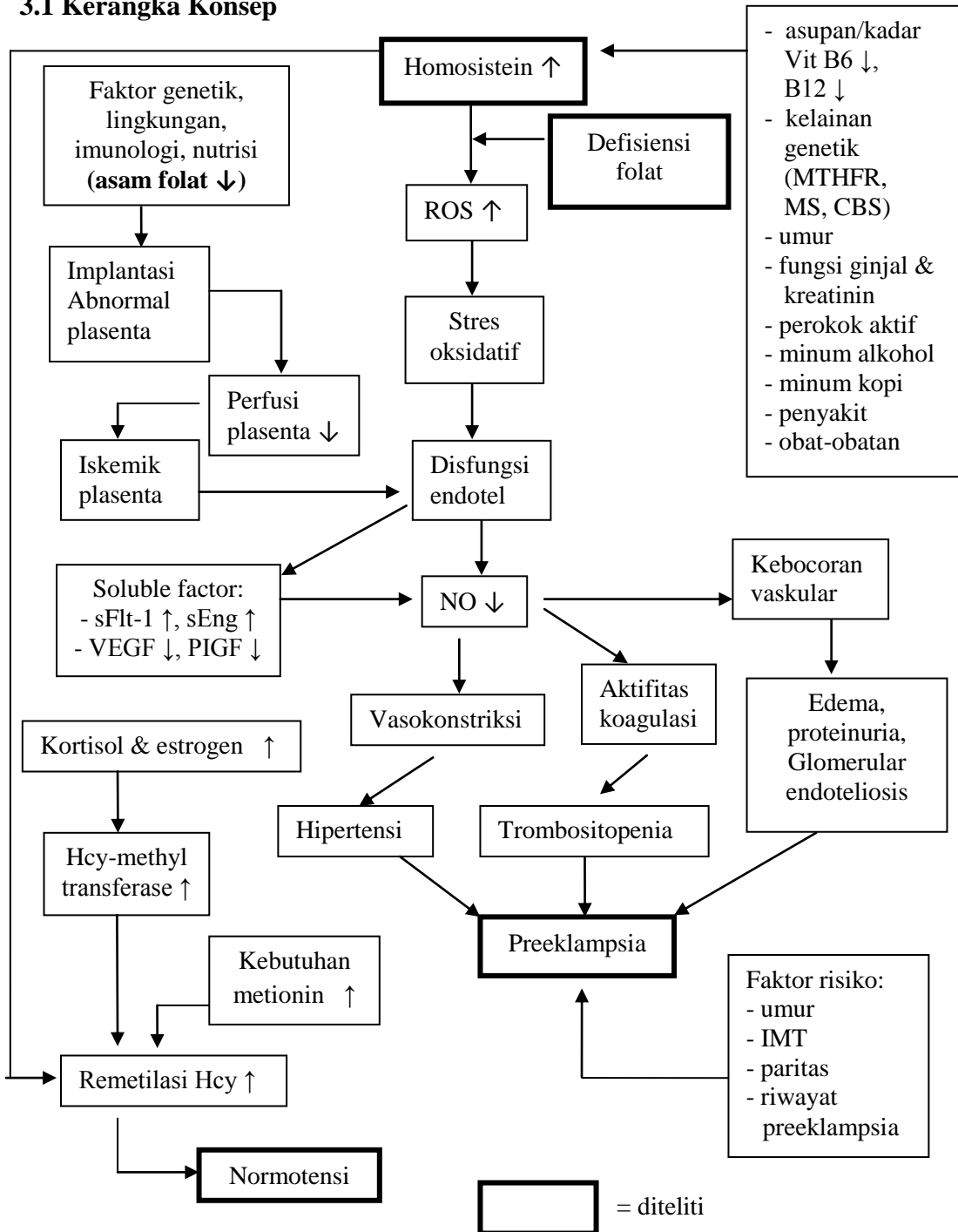
Folat berperan sebagai prekursor untuk 5- *methyltetrahydrofolate*, donor metil untuk remetilasi Hcy menjadi metionin (Thaler, 2014) sehingga autooksidasi Hcy yang menghasilkan disulfida teroksidasi, dua proton (H⁺) dan dua elektron (e⁻) yang merangsang pembentukan ROS tidak terbentuk (Forges *et al*, 2007; Thaler, 2014). Defisiensi folat secara tidak langsung menyebabkan peningkatan konsentrasi plasma Hcy. Defisiensi folat juga menyebabkan rendahnya konsentrasi *S-adenosyl methionine*, donor metil penting yang diperlukan untuk

proses epigenetik (metilasi gen) dan untuk dasar memproses metabolisme sel (sintesis DNA dan protein) (Thaler, 2014). Asam folat efektif untuk normalisasi kadar homosistein yang meningkat sehingga dapat digunakan untuk mencegah penyakit kardiovaskular (Refsum *et al*, 1998). Asam folat juga dapat menjaga fungsi endotel dengan menurunkan katabolisme nitrat oksida (Wen *et al*, 2013).

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1. Kerangka konsep hubungan asam folat dengan homosistein pada preeklampsia dan kehamilan normal

3.2 Penjelasan kerangka konsep

Dalam keadaan fisiologis kadar homosistein yang meningkat akan dikonversi menjadi metionin melalui jalur remetilasi. Pada keadaan defisiensi vitamin B6 dan B12, kelainan genetik yang berkaitan dengan enzim MTHFR, MS atau CBS, konsumsi alkohol, merokok, minum kopi yang berlebihan, penyakit dan obat-obatan; homosistein yang meningkat akan dimetabolisme menjadi Hcy-tiolakton oleh methionyl- tRNA synthase (metRS) yang toksik bagi sel. Hcy-tiolakton adalah tioester yang reaktif, bereaksi dengan kelompok amino bebas *low-density lipoprotein* (LDL) membentuk sel busa. Hcy secara cepat mengalami autooksidasi membentuk homosistin, *mixed disulfide* dan homosistein tiolakton. Selama autooksidasi Hcy akan terbentuk ROS. Defisiensi folat menyebabkan ketiadaan donor metil untuk remetilasi sehingga terjadi ROS, Peningkatan ROS menyebabkan stress oksidatif yang menyebabkan disfungsi endotel. Selanjutnya, disfungsi endotel akan menurunkan bioaktivitas NO.

Kehamilan dipengaruhi oleh berbagai faktor. Faktor genetik, lingkungan, imunologi, faktor nutrisi dan faktor lain yang merupakan faktor predisposisi preeklampsia menyebabkan kerusakan plasenta berupa implantasi abnormal plasenta. Salah satu faktor nutrisi yang berhubungan dengan implantasi abnormal plasenta adalah asam folat. Defisiensi asam folat berhubungan dengan gangguan perkembangan dan implantasi plasenta. Keadaan ini menimbulkan penurunan perfusi plasenta selanjutnya terjadi iskemik plasenta. Iskemik plasenta selanjutnya menimbulkan disfungsi endotel. Pada saat disfungsi endotel maka endotel akan melepaskan sejumlah faktor yang dapat larut ke dalam sirkulasi maternal seperti peningkatan sFlt dan sEng, penurunan VEGF dan PlGF.

Faktor-faktor ini menyebabkan penurunan bioaktivitas NO bersamaan dengan hiperhomosisteinemia.

Penurunan bioaktivitas NO menyebabkan vasokonstriksi pada pembuluh darah sehingga menimbulkan hipertensi; aktifitas koagulasi sehingga terjadi trombositopenia; dan kebocoran vakular yang menimbulkan edema, proteinuria dan *glomerular endoteliosis*, yang merupakan sindrom preeklampsia.

Pada kehamilan normal terjadi peningkatan kortisol dan estrogen yang menyebabkan peningkatan enzim *Hcy-methyltransferase* pada hepar dan *methionine synthase* pada ginjal yang menghasilkan peningkatan remetilasi dari homosistein menjadi metionin. Oleh karena itu kadar homosistein rendah pada kehamilan normal.

3.3 Hipotesis

Terdapat penurunan kadar asam folat dan peningkatan homosistein plasma pada pasien preeklampsia.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan pendekatan potong lintang (*cross sectional*) untuk mengetahui hubungan kadar asam folat dengan homosistein plasma pada preeklampsia dan kehamilan normal yang dilakukan pada saat bersamaan.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di:

1. Ruang bersalin dan instalasi gawat darurat RSUP Dr. M. Djamil, RSUD dr. Rasidin dan RST dr. Reksodiwiryo Padang untuk pengambilan sampel
2. Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang untuk pemeriksaan kadar asam folat dan homosistein plasma.

Penelitian dilaksanakan Maret – Mei 2015.

4.3 Populasi dan Sampel Penelitian

4.3.1 Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua ibu hamil normal dengan usia kehamilan 37- 40 minggu dan preeklampsia berat dengan usia kehamilan 20 – 40 minggu yang datang ke Instalasi Gawat Darurat atau dirawat di ruang bersalin

RSUP Dr. M. Djamil, RSUD Dr Rasidin dan RS Dr.Reksodiwiryono Padang.

Sampel adalah ibu hamil dengan preeklampsia berat dan kehamilan normal yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

4.3.1.1 Kriteria inklusi

1. Primigravida atau multigravida dengan usia kehamilan 20 - 40 minggu yang didiagnosa preeklampsia berat dan kehamilan normal dengan usia kehamilan 37 – 40 minggu.
2. Hamil tunggal atau kembar
3. Umur 20 – 35 tahun
4. Bersedia menjadi sampel dengan menandatangani *informed consent*

4.3.1.2 Kriteria eksklusi

1. Pasien dalam pengobatan yang mempengaruhi kadar homosistein (pasien dengan penyakit epilepsi, kanker dan asma (*carbamazepine, phenitoin, 6-az-auridine, xanthopterin, antifolic acid, anticonvulsant agent, tamoxifen dan theophilline*)) (Refsum *et al*, 1998) berdasarkan anamnesa.
2. Pasien yang mengkonsumsi bir atau sejenisnya yang mengandung alkohol 1 gelas/hari (Gibson, *et al* 2008), minum kopi >5 cangkir/hari dan merokok >1 batang/hari (Refsum *et al*, 2006) berdasarkan anamnesa.
3. Riwayat penyakit ginjal, jantung, hipertensi, diabetes mellitus, asma dan epilepsi (Refsum *et al*, 2006) berdasarkan anamnesa dan catatan pada rekam medis.

4.3.2 Besar Sampel

Besar sampel ditetapkan berdasarkan rumus perhitungan besar sampel menggunakan dua populasi independen (Madiyono, Mz Moeslichan, Sastroasmoro, Budiman, & Purwanto, 2011) yaitu:

$$n1 = n2 = 2 \frac{Z\alpha + Z\beta S^2}{x1 - x2}$$

Keterangan:

S = simpangan baku kedua kelompok = 1,73 (Mujawar *et al*, 2011)

$x1 - x2$ = perbedaan klinis yang diinginkan = 1,5 (ditetapkan peneliti)

$Z\alpha$ = kesalahan tipe-1 (α) = 5% = 1,96

$Z\beta$ = kesalahan tipe-2 (β) = 20% = 0,842

Simpangan baku kedua kelompok diperoleh berdasarkan perhitungan sebagai berikut (Dahlan, 2009):

$$Sgab^2 = \frac{[S1^2 \times n1 - 1 + S2^2 \times (n2 - 1)]}{n1 + n2 - 2}$$

Keterangan:

Sgab = simpangan baku gabungan

S1 = simpangan baku kelompok 1 = 2,13 (Mujawar *et al*, 2011)

n1 = besar sampel kelompok 1 = 50 (Mujawar *et al*, 2011)

S2 = simpangan baku kelompok 2 = 1,22 (Mujawar *et al*, 2011)

n2 = besar sampel kelompok 2 = 50 (Mujawar *et al*, 2011)

Berdasarkan rumus di atas maka didapatkan simpangan baku gabungan kedua kelompok sebagai berikut:

$$Sgab^2 = \frac{[2,13^2 \times 50 - 1 + 1,22^2 \times (50 - 1)]}{50 + 50 - 2}$$

$$Sgab = 1,73$$

Berdasarkan simpangan baku tersebut maka didapatkan besar subjek sebagai berikut:

$$n_1 = n_2 = 2 \frac{1,96 + 0,842 \sqrt{1,73}}{1,5}$$

$$n_1 = n_2 = 20,8 = 21$$

Untuk mengantisipasi subjek yang *drop out*, maka dilakukan perhitungan sebagai berikut (Madiyono *et al*, 2011):

$$n = \frac{n}{1 - f} \quad n = \frac{21}{1 - 0,1} \quad n = 23,3 = 23$$

Keterangan:

n = besaran sampel yang diinginkan

f = perkiraan proporsi *drop out* = 10% = 0,1

Berdasarkan perhitungan di atas maka besar sampel keseluruhan dalam penelitian ini sebanyak 46 orang (masing-masing kelompok adalah 23 orang).

4.3.3 Cara Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah *non probability sampling* yaitu dengan cara *consecutive sampling*. Semua subjek yang datang secara berurutan dan memenuhi kriteria inklusi dimasukkan dalam penelitian sampai jumlah subjek yang diperlukan terpenuhi (Sastroasmoro, 2011).

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel bebas (independen) : kadar asam folat plasma

4.4.2 Variabel tergantung (dependen) : kadar homosistein plasma

4.5 Definisi Operasional

4.5.1 Preeklampsia berat adalah keadaan hipertensi dalam kehamilan yang didiagnosis setelah kehamilan 20 minggu dengan tekanan darah \geq 160/110 mmHg dan disertai proteinuria dengan pemeriksaan dipstik \geq +1 yang telah didiagnosa oleh dokter.

Cara ukur : dilihat dalam rekam medis

Alat ukur : data yang tercantum dalam rekam medis

Hasil ukur : 1. Preeklampsia berat
2. tidak preeklampsia (kehamilan normal)

Skala ukur : nominal

4.5.2 Asam folat adalah bagian dari kelompok vitamin B kompleks, terdiri dari sebuah cincin pteridin, *para-aminobenzoic acid* dan asam glutamate. Kadar asam folat plasma normal adalah 5,4 – 18,0 ng/mL (Cunningham *et al*, 2010).

Cara ukur : metode ELISA kit merek Elabscience

Alat ukur : spektrofotometer

Hasil ukur : ng/mL

Skala ukur : rasio

4.5.3 Homosistein adalah asam amino yang mengandung sulfur, yang tidak menyatu ke dalam protein tetapi merupakan bentuk intermediet metabolisme protein pada konversi dari asam amino metionin ke sistein atau pada remetilasi ke bentuk metionin. Kadar homosistein plasma normal adalah 5-15 μ mol/L (Karolczak & Olas, 2009).

Cara ukur : metode ELISA kit merek Elabscience

Alat ukur : spektrofotometer

Hasil ukur : μ mol/L

Skala : rasio

4.6 Bahan dan Alat Penelitian

4.6.1 Bahan

Bahan penelitian berupa plasma darah vena subjek, Kit *human homocysteine* ELISA dan Kit *human folic acid* ELISA.

4.6.2 Alat

Alat penelitian berupa lembar observasi yang berisi hasil pemeriksaan kadar serum asam folat dan homosistein subjek. Peralatan untuk pengambilan sampel darah vena yaitu torniket, spuit 3 ml, tabung sampel darah, alkohol swabs, vakutiner 3 ml dan sarung tangan.

4.7 Cara Kerja Penelitian

- 4.7.1 Sebelum melakukan penelitian, peneliti mengikuti seminar kaji etik penelitian kedokteran dan kesehatan pada panitia etik penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang
- 4.7.2 Penelitian dilakukan setelah mendapatkan kelayakan etik dari komite etik penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang. Selanjutnya peneliti mengajukan permohonan melaksanakan penelitian ke RSUP DR. M. Djamil, RSUD dr. Rasidin dan RS dr. Reksodiwiryo Padang.
- 4.7.3 Penelitian dilakukan bekerja sama dengan bagian instalasi laboratorium, instalasi gawat darurat dan ruang bersalin RSUP DR. M. Djamil, RSUD dr. Rasidin dan RS dr. Reksodiwiryo Padang.
- 4.7.4 Subjek dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Dalam menentukan kriteria eksklusi subjek berdasarkan hasil diagnosis dokter pada catatan medis ibu. Ibu yang memenuhi syarat penelitian

akan diambil sebagai subjek penelitian dan diberi penjelasan sebelum persetujuan (PSP) tentang penelitian yang akan dilakukan.

- 4.7.5 Bila setuju, ibu diminta menandatangani lembar persetujuan tindakan. Selanjutnya kepada ibu dilakukan pengambilan sampel darah vena untuk pemeriksaan kadar asam folat dan homosistein plasma sebanyak 3 ml di daerah vena antecubiti dalam posisi telentang, sebelumnya kulit tempat darah akan diambil, didesinfeksi menggunakan alkohol swabs. Darah dimasukkan ke dalam tabung yang mengandung EDTA, lalu digoyang dengan hati-hati selanjutnya dilakukan pemusingan selama 15 menit dengan kecepatan 1000 x g pada suhu 2-8⁰C dalam waktu 30 menit setelah pengambilan darah. Plasma hasil pemusingan disimpan ke dalam *cup sample*. Kemudian darah dikirim ke laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dan disimpan pada suhu -20⁰C atau -80⁰C sampai pemeriksaan dilakukan. Pengambilan sampel darah dilakukan oleh petugas ruang bersalin dan instalasi gawat darurat RSUP DR. M. Djamil, RSUD dr. Rasidin dan RS dr. Reksodiwiryo Padang bersamaan dengan pengambilan rutin darah pasien.

- 4.7.6 Cara pemeriksaan kadar asam folat plasma

Protokol kerja ini berdasarkan pada *Human FA/VB9 (Folic Acid/Vitamin B9) ELISA Kit* Elabscience. Darah vena yang telah diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang menggunakan EDTA sebagai antikoagulan. Untuk mendapatkan plasmanya, dilakukan pemusingan selama 15 menit dengan kecepatan 1000xg pada suhu 2-8⁰C dalam waktu 30 menit setelah diambil. Plasma disimpan pada suhu -20⁰C (\leq 1 bulan) atau -80⁰C (\leq 6 bulan) untuk

mencegah kontaminasi dan kehilangan bioaktivitas sebelum digunakan.

Plasma dari setiap sampel dan kontrol, sebanyak 50 μL dipipet ke dalam *microplate*. Segera tambahkan sumur *microplate* masing-masing dengan 50 μL larutan Biotin-antibodi kemudian tutup dengan penutup piring. Inkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C dan homogenkan hingga terlihat seragam. Setiap sumur lalu dicuci sebanyak 3 kali dengan *wash buffer* sebanyak 350 μL , lalu buang cairan dalam sumur. Pencucian yang baik sangat menentukan tampilan hasil pembacaan. Tambahkan 100 μL larutan *Horseradish Peroxidase* (HRP)-konjugasi pada setiap sumur, tutup dengan penutup piring yang baru, inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C . Ulangi langkah pencucian sebanyak 5 kali seperti langkah sebelumnya. Tambahkan 90 μL *substrate solution* ke setiap sumur, tutup dengan piring penutup yang baru, inkubasi selama 15 pada suhu 37°C . Tambahkan 50 μL *Stop solution* ke masing-masing sumur. *Optical density* masing-masing sumur ditentukan segera dengan menggunakan *microplate reader set* pada panjang gelombang 450 nm. Nilai asam folat sampel akan dihitung berdasarkan kurva standar.

4.7.7 Cara pemeriksaan kadar homosistein plasma

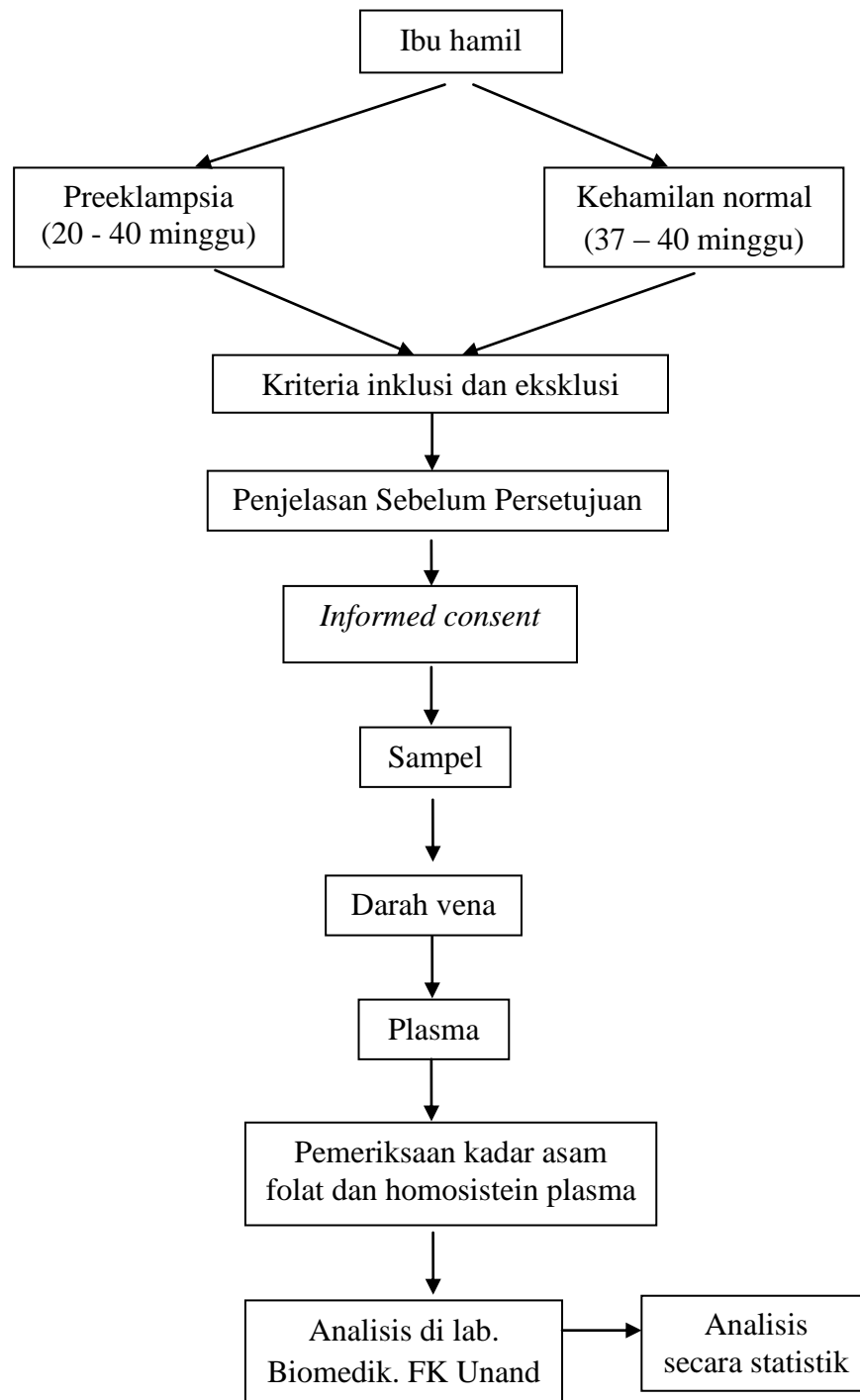
Protokol kerja ini berdasarkan pada *Human Homocysteine* ELISA Kit Elabscience. Darah vena yang telah diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang menggunakan EDTA sebagai antikoagulan. Untuk mendapatkan plasmanya, darah disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan $1000 \times g$ pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ dalam waktu 30 menit setelah diambil. Plasma disimpan pada suhu -20°C

(≤ 1 bulan) atau -80°C (≤ 6 bulan) untuk mencegah kontaminasi dan kehilangan bioaktivitas sebelum digunakan.

Plasma dari setiap sampel dan kontrol, sebanyak $50\ \mu\text{L}$ dipipet ke dalam *microplate*. Segera tambahkan sumur *microplate* masing-masing dengan $50\ \mu\text{L}$ larutan Biotin-antibodi kemudian tutup dengan penutup piring. Inkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C dan homogenkan hingga terlihat seragam. Setiap sumur lalu dicuci sebanyak 3 kali dengan *wash buffer* sebanyak $350\ \mu\text{L}$, lalu buang cairan dalam sumur. Pencucian yang baik sangat menentukan tampilan hasil pembacaan. Tambahkan $100\ \mu\text{L}$ larutan *Horseradish Peroxidase* (HRP)-konjugasi pada setiap sumur, tutup dengan penutup piring yang baru, inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C . Ulangi langkah pencucian sebanyak 5 kali seperti langkah sebelumnya. Tambahkan $90\ \mu\text{L}$ *substrate solution* ke setiap sumur, tutup dengan piring penutup yang baru, inkubasi selama 15 pada suhu 37°C . Tambahkan $50\ \mu\text{L}$ *Stop solution* ke masing-masing sumur. *Optical density* masing-masing sumur ditentukan segera dengan menggunakan *microplate reader set* pada panjang gelombang 450 nm. Nilai asam folat sampel dihitung berdasarkan kurva standar.

- 4.7.8 Seluruh data hasil pemeriksaan kadar asam folat dan homosistein plasma ibu dicatat pada lembar observasi data penelitian

4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur penelitian

4.9 Etika Penelitian

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan kelayakan etik (*ethical clearance*) dari komite etik penelitian. Keterangan Lolos Kaji Etik berasal dari Komite Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas No. 024/KEP/FK/2015. Subjek yang memenuhi kriteria inklusi penelitian diberi penjelasan tentang tujuan dan perlakuan yang akan diberikan. Setelah subjek memahaminya dan setuju maka diminta mengisi dan menandatangani surat persetujuan untuk mengikuti penelitian. Subjek penelitian bebas untuk menolak ikut serta dalam penelitian apabila tidak setuju. Seluruh biaya penelitian dan biaya lain yang timbul akibat penelitian ditanggung oleh peneliti.

4.10 Pengolahan dan Analisis Data

4.10.1 Pengolahan Data

Data yang telah diperoleh dicatat dalam formulir penelitian, dilanjutkan dengan pengolahan data melalui proses *editing*, *coding* dan *tabulating*.

4.10.2 Analisis Data

1. Uji normalitas data menggunakan uji *One-Sample Kolmogorov Smirnov* (Ghozali, 2009) Data yang berskala numerik dengan distribusi normal dihitung rerata dan standar deviasinya. Perbedaan antara kedua kelompok diuji dengan uji T tidak berpasangan.
2. Data yang berskala kategorik dihitung frekuensinya.
3. Untuk menilai hubungan antara dua variabel numerik dilakukan uji korelasi *Pearson*.

(Tumbelaka, Riono, Sastroasmoro, Wirjodiarjo, Pudjiastuti, & Firman, 2011).

Pengolahan dan analisis data menggunakan komputer aplikasi *Statistical Program for Social Science (SPSS) versi 16.0 for Windows* dengan interval kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan power penelitian 80%. Adapun kriteria kemaknaan yang digunakan adalah nilai p, apabila $p \leq 0,05$ berarti bermakna atau signifikan dan $p > 0,05$ tidak bermakna secara statistik.

Interpretasi hasil uji korelasi didasarkan pada nilai p, kekuatan dan arah korelasinya dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

Tabel 4.1 Interpretasi Hasil Uji Korelasi

Parameter	Nilai	Interpretasi
Kekuatan korelasi	0,00 – 0,199	Sangat lemah
	0,20 – 0,399	Lemah
	0,40 – 0,599	Sedang
	0,60 – 0,799	Kuat
	0,80 – 1,000	Sangat kuat
Nilai p	$p < 0,05$	Terdapat korelasi yang bermakna antara dua variabel yang diuji
	$p > 0,05$	Tidak terdapat korelasi yang bermakna antara dua variabel yang diuji
Arah korelasi	+ (positif)	Searah, semakin besar nilai satu variabel semakin besar pula nilai variabel lainnya
	- (negatif)	Berlawanan arah, semakin besar nilai satu variabel, semakin kecil nilai variabel lainnya

sumber: Dahlan, 2011.

Untuk menentukan korelasi berdasarkan *decision points* dengan berbagai besar sampel dapat dilihat pada tabel 4.2:

Tabel 4.2 *Decision Points* Dalam Menentukan Korelasi Linier Untuk Besar Sampel yang Berbeda

n	<i>Decision point</i>	n	<i>Decision point</i>	n	<i>Decision point</i>	n	<i>Decision point</i>
5	0,878	12	0,576	19	0,456	30	0,361
6	0,811	13	0,553	20	0,444	40	0,312
7	0,754	14	0,532	22	0,423	50	0,279
8	0,707	15	0,514	24	0,404	60	0,254
9	0,666	16	0,497	26	0,388	80	0,220
10	0,632	17	0,482	28	0,374	100	0,196
11	0,602	18	0,468				

sumber: Johnson, 1980.

BAB V

HASIL PENELITIAN

Penelitian telah dilakukan sejak Maret sampai dengan Mei 2015 di RSUP DR. M. Djamil, RSUD dr. Rasidin dan RS dr. Reksodiwiryo Padang. Penelitian ini dilakukan pada 46 subjek penelitian (23 responden dengan diagnosis preeklampsia berat dan 23 responden dengan kehamilan normal) yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dengan hasil sebagai berikut:

5.1 Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik subjek penelitian dapat dilihat pada tabel 5.1 berikut ini:

Tabel 5.1 Karakteristik Dua Kelompok Subjek Penelitian

Variabel	Preeklampsia Berat (n=23) (rerata \pm SD)	Kehamilan Normal (n=23) (rerata \pm SD)	P
Umur ibu (tahun)	29,65 \pm 4,30	28,83 \pm 3,60	0,484
Usia kehamilan (minggu)	35,17 \pm 3,48	38,30 \pm 1,14	0,000*
IMT sebelum hamil (Kg/m ²)	22,60 \pm 4,32	23,40 \pm 5,09	0,564

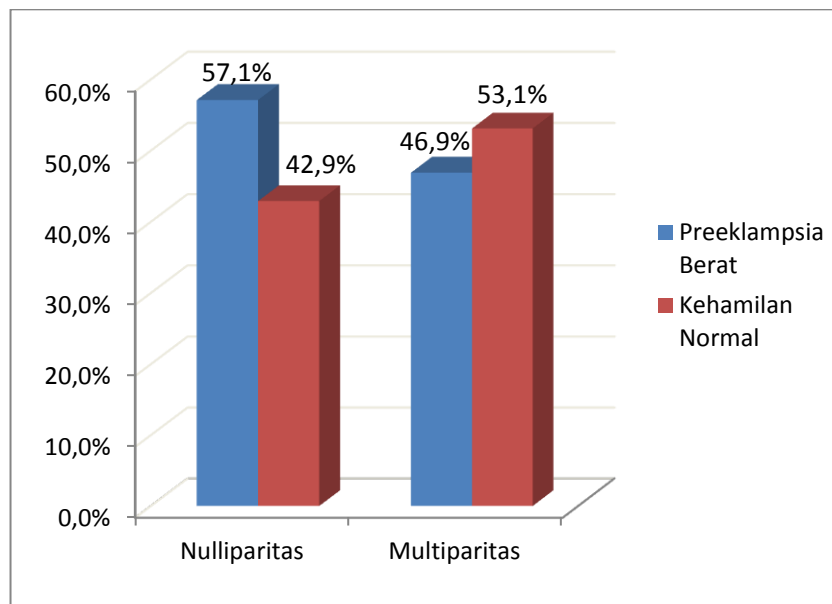
SD = standar deviasi

*signifikan

Dari tabel 5.1 dapat dilihat rerata usia ibu hamil pada kelompok preeklampsia berat cenderung lebih tua dari pada kelompok kehamilan normal yaitu 29,65 \pm 4,30 tahun pada kelompok preeklampsia berat dan 28,83 \pm 3,60 tahun pada kehamilan normal. Hasil uji statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan ($p>0,05$) antara kedua kelompok. Rerata usia kehamilan pada preeklampsia berat lebih pendek dari pada kelompok kehamilan normal, yaitu 35,17 \pm 3,48 minggu pada preeklampsia berat dan 38,30 \pm 1,14 minggu pada kehamilan normal. Berdasarkan uji statistik terdapat perbedaan sangat bermakna ($p<0,05$) antara

preeklampsia berat dan kehamilan normal. Rerata indeks masa tubuh sebelum hamil pada preeklampsia berat lebih rendah dibandingkan dengan kehamilan normal, yaitu $22,60 \pm 4,32 \text{ Kg/m}^2$ pada preeklampsia berat dan $23,40 \pm 5,09 \text{ Kg/m}^2$ pada kehamilan normal. Hasil uji statistik mengindikasikan tidak terdapat perbedaan antara kedua kelompok ($p > 0,05$).

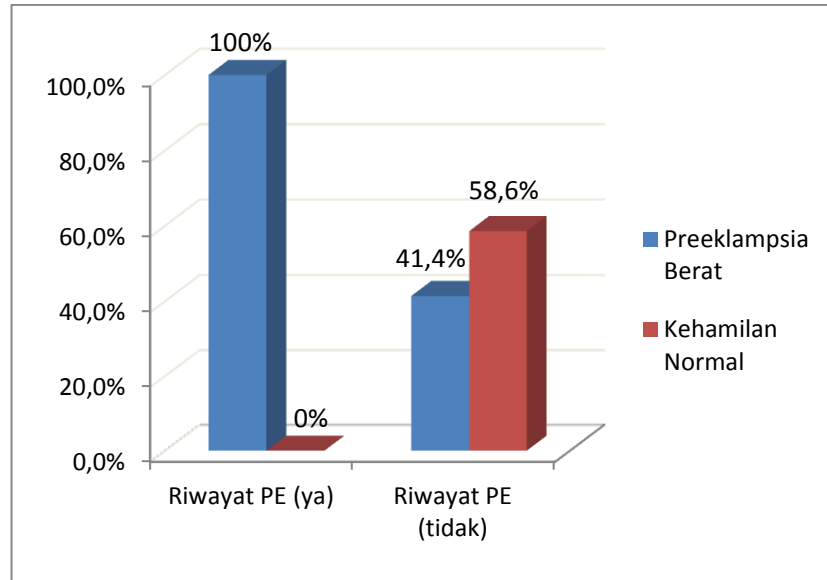
Distribusi subjek penelitian berdasarkan paritas dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 5.1 Distribusi Subjek Penelitian Berdasarkan Paritas.

Berdasarkan gambar 5.1 diketahui sebanyak 8 orang (57,1%) nulliparitas mengalami preeklampsia berat, sedangkan diantara multiparitas, ada 15 orang (46,9%) yang mengalami preeklampsia berat.

Distribusi subjek penelitian berdasarkan riwayat preeklampsia dapat dilihat pada gambar di bawah ini:

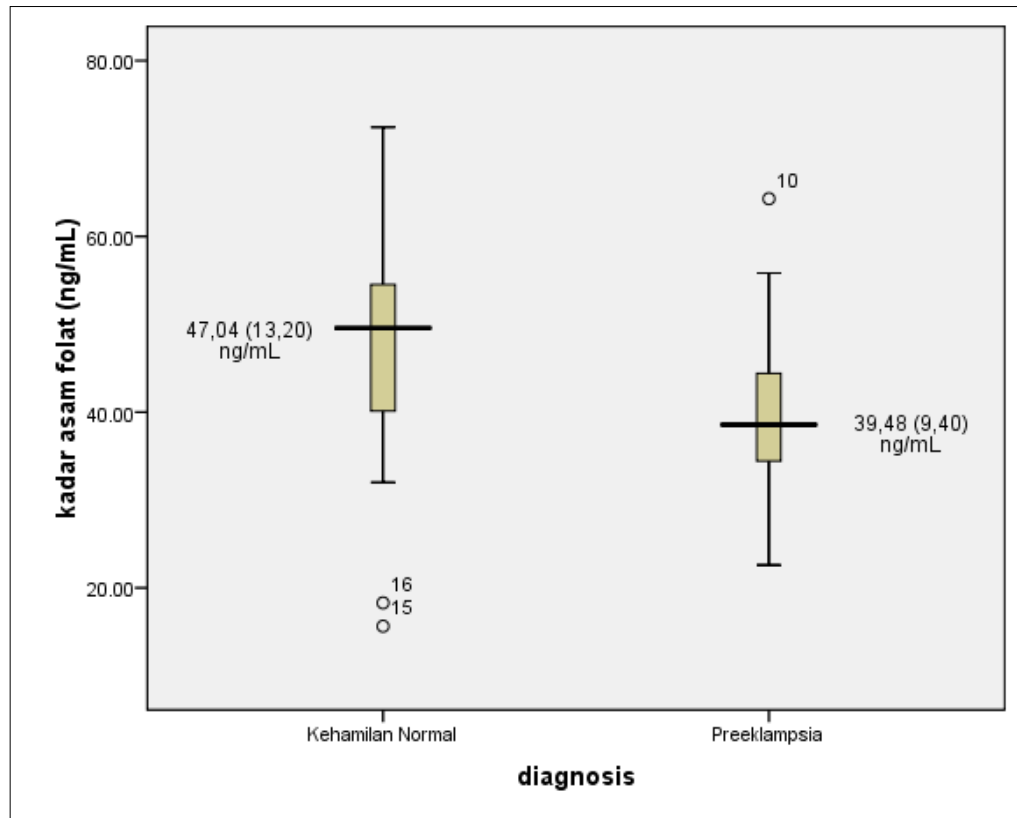


Gambar 5.2 Distribusi Subjek Penelitian Berdasarkan Riwayat Preeklampsia

Dari gambar 5.2 diketahui sebanyak 3 orang (100%) dengan riwayat preeklampsia mengalami preeklampsia berat pada kehamilan sekarang dan sebanyak 12 orang (41,4%) tanpa riwayat preeklampsia selanjutnya menderita preeklampsia berat.

5.2 Kadar Asam Folat dan Homosistein pada Subjek Penelitian

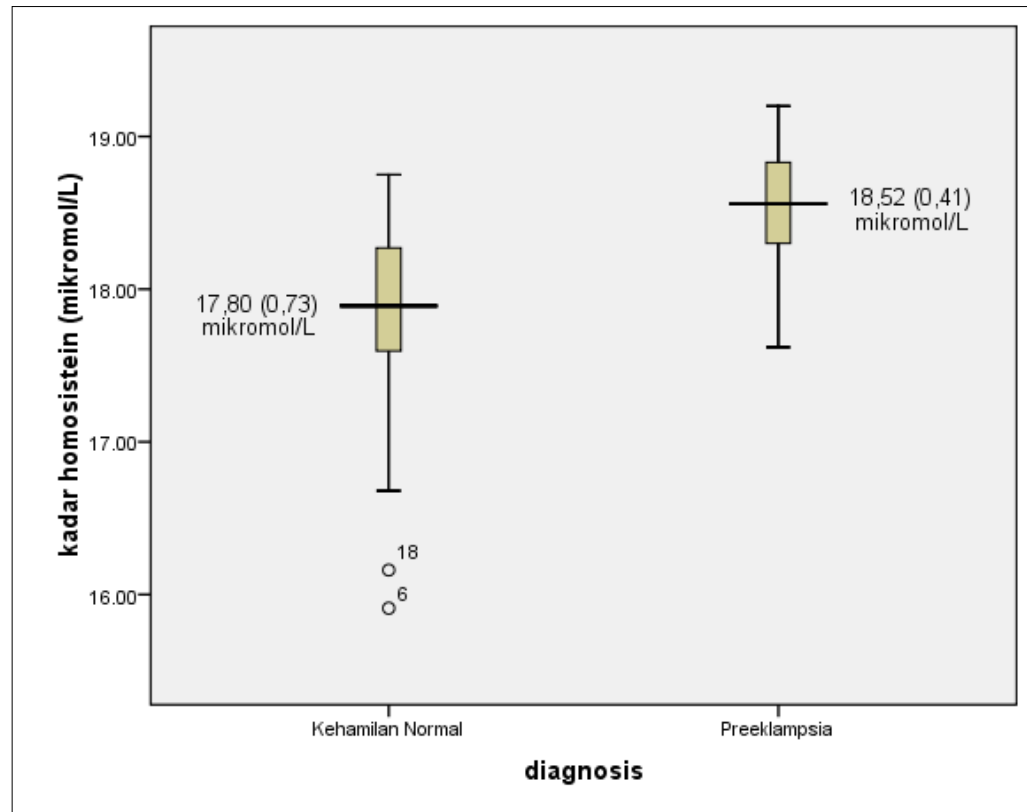
Untuk mengetahui perbedaan rerata kadar asam folat dan homosistein dilakukan uji T tidak berpasangan. Kadar asam folat kedua subjek penelitian ditampilkan pada grafik *boxplot* berikut ini:



Gambar 5.3 *Box Plot* Rerata Kadar Asam Folat pada Kehamilan Normal dan Preeklampsia Berat.

Gambar 5.3 menunjukkan bahwa rerata kadar asam folat pada preeklampsia berat lebih rendah dibandingkan dengan kehamilan normal, yaitu $39,48 \pm 9,40$ ng/mL pada preeklampsia dan $47,04 \pm 13,20$ ng/mL pada kehamilan normal. Dari hasil uji statistik terdapat perbedaan bermakna dengan $p=0,031$ ($p < 0,05$).

Kadar homosistein kedua subjek penelitian ditampilkan pada grafik *boxplot* di bawah ini:



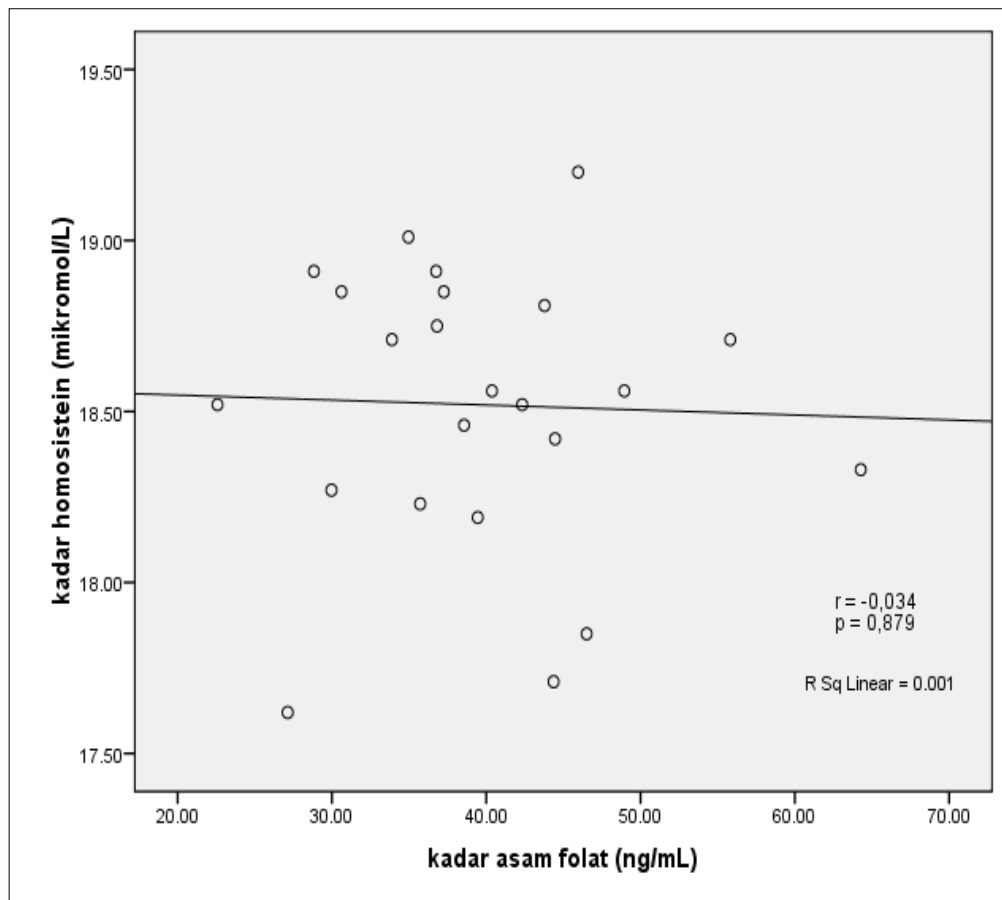
Gambar 5.4 *Box Plot* Rerata Kadar Homosistein pada Kehamilan Normal dan Preeklampsia.

Dari grafik di atas diketahui rerata kadar homosistein lebih tinggi pada preeklampsia berat daripada kehamilan normal, yaitu $18,52 \pm 0,41 \mu\text{mol/L}$ dan $17,80 \pm 0,73 \mu\text{mol/L}$. Hasil uji statistik menunjukkan terdapat perbedaan sangat bermakna antara kedua kelompok; $p=0,000$ ($p < 0,05$).

5.3 Hubungan Asam Folat dengan Homosistein pada Preeklampsia dan Kehamilan Normal

Untuk mengetahui hubungan kadar asam folat dengan homosistein pada preeklampsia berat dan kehamilan normal digunakan uji korelasi *Pearson*.

Hubungan kadar asam folat dengan homosistein pada preeklampsia berat ditunjukkan oleh grafik berikut ini:



Gambar 5.5 *Scatter Plot* Hubungan Kadar Asam Folat dengan Homosistein pada Preeklampsia Berat

Berdasarkan gambar 5.5 diketahui korelasi asam folat dengan homosistein sebesar $r = -0,034$ ($R^2 = 0,001$). Berdasarkan uji statistik terdapat korelasi negatif yang sangat lemah dan tidak signifikan antara asam folat dengan homosistein pada preeklampsia berat; $p = 0,879$ ($p > 0,05$).

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1. Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukan pengkajian riwayat asupan harian asam folat dan protein sebelumnya. Riwayat diet mengandung asam folat tinggi meningkatkan kadar serum/plasma folat (Salehi-PourMehr *et al*, 2012). Plasma atau serum folat menggambarkan asupan folat dalam beberapa hari terakhir (WHO, 2012). Diet mengandung metionin berlebihan meningkatkan kadar homosistein (Rees, Wilson, & Maloney, 2006). Makanan tinggi protein akan meningkatkan kadar homosistein 10-15 % setelah 6-8 jam (Refsum *et al*, 2004). Peneliti juga tidak mengkaji kepatuhan responden terhadap suplementasi folat selama kehamilan dan jumlah yang dikonsumsi. Suplementasi folat meningkatkan kadar folat saat persalinan (Wallace *et al*, 2008). Pada penelitian ini tidak diketahui kadar folat dan homosistein sebelum hamil atau pada kehamilan trimester I. Pengambilan sampel darah responden dilakukan dalam keadaan tidak puasa karena kondisi tidak memungkinkan. Selanjutnya, perbedaan usia kehamilan pada kedua kelompok penelitian sangat signifikan sehingga mempengaruhi kadar asam folat dan homosistein.

6.2 Perbedaan Rerata Kadar Asam Folat pada Preeklampsia dan Kehamilan Normal

Kadar asam folat ibu preeklampsia $39,53 \pm 9,40$ ng/mL lebih rendah dibandingkan dengan kehamilan normal $47,04 \pm 13,20$ ng/mL dengan perbedaan

rerata 7,56 (IK 95%: 0,74–14,36). Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan rerata bermakna kadar asam folat pada preeklampsia dan kehamilan normal dimana $p=0,034$ ($p<0,05$).

Pada kehamilan, terjadi penurunan konsentrasi folat sejak kehamilan 5 bulan dan terus berlanjut sampai 1 bulan postpartum (Megahed & Taher, 2005). Pada wanita hamil tanpa suplementasi asam folat terjadi penurunan berkisar 10 nmol/L (dari 20-10 nmol/L) selama 40 minggu kehamilan (Tamura & Picciano, 2006). Penurunan ini sebagai respon fisiologis terhadap kehamilan dengan mekanisme yang belum jelas. Penyebab penurunan ini adalah peningkatan permintaan folat untuk pertumbuhan janin dan organ uteroplasenta, dilusi folat karena penambahan volume darah, peningkatan katabolisme folat, peningkatan klirens dan ekskresi folat, penurunan absorpsi folat dan asupan folat yang rendah (Tamura & Picciano, 2006).

Pada penelitian ini tidak terjadi penurunan kadar asam folat. Kadar asam folat pada preeklampsia dan kehamilan normal berada pada rentang tinggi (normal: 5,4–18,0 ng/mL). Namun demikian, terdapat perbedaan kadar asam folat pada kedua kelompok. Tingginya kadar asam folat ini diduga berkaitan dengan suplementasi asam folat selama kehamilan yang diperoleh responden pada saat kunjungan pemeriksaan kehamilan (*antenatal care*). Berdasarkan anamnesa diketahui suplementasi asam folat yang diberikan berkisar 0,250–1 mg/hari. Suplementasi ini telah mencukupi diet harian yang dianjurkan untuk ibu hamil yaitu 600 µg/hari. Suplementasi folat dengan dosis 400 µg/hari dapat mencegah penurunan dan mempertahankan status folat maternal yang lebih optimum selama kehamilan (McNulty *et al.*, 2013).

Folat berperan dalam biosintesis DNA dan RNA serta metabolisme homosistein (Holmes *et al*, 2005). Asam folat menurunkan risiko preeklampsia dengan menurunkan kadar homosistein, meningkatkan fungsi sel endotel (Salehi-PourMehr *et al*, 2012; Wen *et al*, 2013) serta berhubungan dengan perkembangan dan implantasi plasenta (Wen *et al*, 2013). Hasil penelitian Kim *et al* (2014) di Korea melaporkan risiko preeklampsia menurun dengan suplementasi asam folat (OR = 0,88; CI 95%: 0,09–0,76) dan insiden preeklampsia lebih rendah pada kelompok dengan suplementasi asam folat dibandingkan dengan kelompok kontrol (4,2% vs 14,1%; $p = 0,076$).

Bertolak belakang dengan penelitian Saha *et al* (2009) yaitu tidak ada perbedaan kadar plasma folat pada preeklampsia dan kehamilan normal ($10,92 \pm 4,35$ nmol/L dan $13,42 \pm 5,58$ nmol/L). Responden pada penelitian ini adalah wanita dengan kehamilan tunggal pada trimester pertama yang diikuti sampai persalinan. Pemeriksaan kadar asam folat menggunakan metode *competitive immunoassay* pada keadaan puasa. Perbedaan metode pemeriksaan yang digunakan diduga mempengaruhi hasil yang diperoleh.

Makedos *et al* (2007) juga melaporkan tidak ada perbedaan kadar plasma folat pada preeklampsia dan kehamilan normal. Usia kehamilan pada kedua kelompok adalah $34 \pm 6,0$ minggu untuk preeklampsia dan $33,8 \pm 4,1$ minggu pada kehamilan normal. Pemeriksaan plasma folat dilakukan dengan metode *ion capture assay*. Perbedaan usia kehamilan responden dan metode pemeriksaan diduga berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan.

6.3 Perbedaan Rerata Kadar Homosistein pada Preeklampsia dan Kehamilan Normal

Rerata kadar homosistein pada preeklampsia $18,52 \pm 0,41$ $\mu\text{mol/L}$ lebih tinggi daripada kadar homosistein pada kehamilan normal $17,80 \pm 0,73$ $\mu\text{mol/L}$ dengan perbedaan rerata 0,72 (IK 95%: 0,36–1,07). Secara statistik, hal ini menunjukkan perbedaan sangat bermakna dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$).

Peningkatan plasma homosistein telah diidentifikasi sebagai faktor risiko independen untuk penyakit kardiovaskular (Refsum *et al*, 2004). Peningkatan konsentrasi homosistein berhubungan dengan disfungsi endotel yang menjadi patofisiologi preeklampsia (Hoque *et al*, 2008). Oleh karena itu, maka hiperhomosisteinemia selama kehamilan mungkin berkontribusi terhadap kejadian preeklampsia (Incec *et al*, 2006). Peningkatan plasma homosistein terjadi pada 20-30% wanita dengan preeklampsia (Rodrigo *et al*, 2005).

Hiperhomosisteinemia menyebabkan disfungsi endotel melalui mekanisme toksik langsung dan stres oksidatif (Makedos *et al*, 2007; Taddei *et al*, 2000). Sel endotel sangat sensitif terhadap peningkatan ringan kadar homosistein. Sel endotel manusia tidak mengekspresikan bentuk aktif sistationin β -sintase sehingga tidak dapat menginisiasi katabolisme homosistein melalui jalur transsulfurasi. Peningkatan kadar homosistein akan merubah fungsi karakter permukaan endotel vaskular dari antikoagulan menjadi prokoagulan (Karolzack & Olan, 2009). Hiperhomosisteinemia menurunkan bioaktivitas NO, salah satu vasodilator utama tergantung-endotel (Taddei *et al*, 2000; Karolzack & Olan, 2009).

Kadar homosistein maternal turun pada kehamilan normal. Penurunan plasma tHcy dimulai pada awal trimester pertama dan mencapai titik nadir pada trimester kedua (Megahed & Taher, 2005; Saha *et al*, 2009). Hal ini disebabkan oleh respon fisiologis terhadap kehamilan, peningkatan estrogen, hemodilusi atau peningkatan permintaan metionin oleh ibu dan janin (Ingec *et al*, 2005; Megahed & Taher, 2005). Homosistein akan meningkat secara berangsur-angsur pada kehamilan trimester ketiga (McNulty *et al*, 2013).

Hasil penelitian yang berbeda dilaporkan oleh Saha *et al* (2009), kadar homosistein pada kehamilan normal tidak berbeda dengan preeklampsia yaitu $5,50 \pm 0,85$ $\mu\text{mol/L}$ pada kehamilan normal dan $5,80 \pm 1,80$ $\mu\text{mol/L}$ pada preeklampsia dengan nilai $p=0,675$. Pada penelitian ini sampel diikuti sejak kehamilan trimester pertama sampai persalinan. Saha melaporkan 7 kasus preeklampsia dari 226 responden penelitian ini. Pemeriksaan homosistein menggunakan metode *fluorescence polarization immunoassay* (FPIA), pengambilan sampel darah dalam keadaan puasa 12 jam. Perbedaan hasil penelitian ini diduga karena sampel preeklampsia lebih kecil ($n=7$) sehingga belum menggambarkan pada populasi sebenarnya dan metode pemeriksaan yang berbeda.

Mekanisme peningkatan kadar homosistein pada preeklampsia masih belum jelas (Saha *et al*, 2009; Karunashree *et al*, 2014). Diperkirakan insufisiensi ginjal (Mujawar *et al*, 2011), penurunan pembentukan metionin dari homosistein, kelainan metabolisme homosistein pada hati, penurunan remetilasi di seluruh tubuh dan berkurangnya vitamin B menjadi penyebab hiperhomosisteinemia pada preeklampsia (Isber, 2006). Penyebab hiperhomosisteinemia ringan adalah gaya

hidup yang tidak sehat (perokok aktif, konsumsi kopi >5 cangkir/hari, konsumsi alkohol), diet vegetarian, defisiensi ringan folat atau vitamin B12 dan polimorfis MTHFR 677C→T (Refsum *et al*, 2004). Pada penelitian ini vitamin B6, B12, betain dan polimorfis MTHFR 677C→T tidak diteliti, diduga faktor ini menyebabkan hiperhomosisteinemia ringan pada subjek penelitian ini.

Pada penelitian ini, kadar homosistein pada kedua kelompok menunjukkan hiperhomosisteinemia ringan. Namun demikian terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p=0,000$); kadar homosistein pada preeklampsia lebih tinggi dibandingkan dengan kehamilan normal. Peningkatan ringan kadar Hcy pada kehamilan normal ini diduga berkaitan dengan variasi diurnal yaitu kadar Hcy lebih rendah pada pagi hari dan meningkat pada sore hari (Refsum *et al*, 2004). Pada penelitian ini, responden kehamilan normal sebagian besar diambil sampel darahnya pada sore hari dalam keadaan tidak puasa. Selain itu rerata usia kehamilan responden pada kehamilan normal adalah $38,30 \pm 1,14$ minggu sehingga sudah terjadi peningkatan kadar homosistein secara berangsur-angsur.

Sampai saat ini belum jelas apakah hiperhomosisteinemia adalah penyebab primer preeklampsia dan merupakan *outcome* abnormal atau hanya epifenomena (Cikot, Steegers-Theunissen, Thomas, de Boo, Merkus, & Steegers, 2001). Dengan demikian diperkirakan ada faktor lain yang menyebabkan kerusakan vaskular yang bekerja sama dengan homosistein sehingga menyebabkan preeklampsia.

6.4 Hubungan Kadar Asam Folat dengan Homosistein pada Preeklampsia

Berdasarkan hasil uji statistik diketahui kadar asam folat rendah pada ibu hamil preeklampsia memiliki kecenderungan meningkatkan kadar homosistein walaupun hubungannya sangat lemah dengan nilai $r=-0,034$; $R^2=0,001$; $p=0,879$. Hal ini menggambarkan asam folat memberikan kontribusi sebesar 0,1% terhadap peningkatan kadar homosistein pada preeklampsia. Berdasarkan hal ini, berarti hipotesis diterima yaitu dengan penurunan kadar asam folat menyebabkan peningkatan homosistein walaupun hubungan ini secara statistik sangat lemah/tidak berhubungan ($p>0,05$).

Hiperhomosisteinemia adalah salah satu faktor yang menyebabkan kerusakan vaskular pada preeklampsia (Patel *et al*, 2012). Sebagian besar hasil penelitian melaporkan kadar homosistein meningkat pada wanita dengan preeklampsia berat (Karunashree *et al*, 2014; Mujawar *et al*, 2011; Sangeeta *et al*, 2013; Hoque *et al*, 2008). Homosistein menyebabkan stres oksidatif sehingga menimbulkan kerusakan sel endotel yang memegang peranan sebagai mekanisme pada patofisiologi preeklampsia (Medina, Urdiales, & Amores-Sanchez, 2001).

Homosistein dapat menyebabkan kerusakan vaskular secara langsung atau melalui pembentukan ROS (Medina *et al*, 2001). Penelitian *in vitro* mengindikasikan bahwa homosistein mempunyai efek berbahaya terhadap sel endotel, meningkatkan koagulasi dan proliferasi sel otot polos (Ganguly & Alam, 2015). Konsentrasi homosistein tinggi mengaktivasi faktor V, mengurangi aktivasi protein C, inaktivasi aktivitas kofaktor trombomodulin, menekan trombomodulin dan ekspresi antikoagulan sulfat heparan (Refsum *et al*, 1998).

Homosistein secara cepat bereaksi dengan NO untuk membentuk *S-nitroso-Hcy* yang bekerja sebagai agen antiplatelet poten dan vasodilator, pembentukan ini mungkin mengurangi produksi peroksida dari homosistein (Medina *et al*, 2001). Cedera vaskular disebabkan oleh ketidakseimbangan produksi NO dari sel endotel disfungsi dan konsentrasi homosistein. Homosistein juga menurunkan ekspresi enzim antioksidan glutathion peroksidase dan mempertinggi faktor B *natural killer* (Medina *et al*, 2001).

Paparan terhadap homosistein yang diinduksi oleh waktu dan tergantung konsentrasi mengurangi viabilitas sel (Ganguly & Alam, 2015). Sitotoksitas tertinggi digambarkan oleh 80 μM homosistein yang menghasilkan 80% kematian sel setelah 5 hari. Penurunan signifikan dari viabilitas sel mencapai 35% juga terlihat setelah 5 hari inkubasi dengan 40 μM homosistein. Sel yang terpapar homosistein selama periode 3 hari tidak menginduksi perubahan signifikan pada kadar ROS tetapi inkubasi dengan homosistein selama 5 hari menyebabkan peningkatan 4,4 kali lipat produksi ROS (Ganguly & Alam, 2015).

Sebagai bagian dari sistem pertahanan antioksidan, beberapa vitamin juga berperan sebagai kofaktor enzim. Vitamin B6, B12 dan asam folat adalah kofaktor esensial pada metabolisme metionin-homosistein (Ganguly & Alam, 2015). Oleh karena itu, rendahnya ketersediaan vitamin B (B6, B12 dan asam folat) menghalangi remetilasi homosistein menjadi metionin sehingga mengakumulasi homosistein (Ganguly & Alam, 2015).

Vitamin B mengurangi homosistein tanpa memperbaiki disfungsi endotel atau hiperkoagulabilitas. Data terbaru mengindikasikan bahwa homosistein mengakumulasi secara sekunder terhadap peningkatan stres oksidatif yang

berhubungan dengan aktivasi imun. Hubungan antara penyakit kardiovaskular dan homosistein mungkin berasal dari defisiensi vitamin B atau hanya reaktivitas perubahan vaskular ketika kadar folat rendah secara simultan (Ganguly & Alam, 2015). Sebagian terapi vitamin mencegah komplikasi vaskular homosistinuria dan penggunaan vitamin berhubungan dengan risiko lebih rendah penyakit vaskular pada populasi umum (Refsum *et al*, 1998).

Sementara itu, hasil penelitian berbeda dilaporkan oleh Sanchez *et al* (2001) di Peru yaitu terdapat hubungan antara kadar folat plasma rendah dengan konsentrasi homosistein tinggi pada preeklampsia. Diantara kriteria inklusi responden pada penelitian Sanchez adalah nulliparitas dan perdarahan trimester ketiga. Hal ini berbeda pada penelitian ini, dimana responden penelitian ini adalah kehamilan tanpa perdarahan trimester ketiga dan semua paritas (nulliparitas dan multiparitas). Perdarahan trimester ketiga akan mempengaruhi kadar asam folat karena pengeluaran dari tubuh. Nulliparitas adalah salah satu faktor risiko preeklampsia. Perbedaan lain adalah metode pemeriksaan homosistein yang digunakan yaitu *high performance liquid chromatography* (HPLC) dan pemeriksaan asam folat menggunakan metode *radioimmunoassay* dalam keadaan puasa.

Hasil penelitian Patrick *et al* (2004) di Pittsburgh juga mendapatkan ada hubungan terbalik antara homosistein plasma dengan asam folat pada ras kulit hitam ($r=-0,23$, $p=0,01$). Sampel pada penelitian ini adalah wanita kulit hitam dan kulit putih yang dikelompokkan menjadi preeklampsia dan kehamilan normal. Semua responden pada penelitian ini adalah nulliparitas, dilakukan *matching* pada indeks masa tubuh. Pemeriksaan homosistein menggunakan metode *high*

performance liquid chromatography (HPLC) dan pemeriksaan asam folat menggunakan metode *radioimmunoassay*. Hubungan pada penelitian ini diduga akibat pengaruh nutrisi pada populasi kulit hitam. Perbedaan penelitian ini diperkirakan berhubungan dengan etnis/ras. Refsum *et al* (2004) menyatakan pada negara berkembang konsentrasi tHcy sangat tinggi pada populasi umum.

Penelitian Patel *et al* (2012) di Ahmedabad juga melaporkan ada hubungan antara kadar folat rendah dengan homosistein tinggi pada preeklampsia. Pada penelitian ini dilakukan *matching* terhadap status sosial ekonomi, kebiasaan makan dan semua responden tanpa suplementasi asam folat. Pemeriksaan homosistein dan asam folat menggunakan metode *fluorescence polarization immunoassay* (FPIA). Perbedaan pada penelitian ini diduga akibat pengaruh kebiasaan makan masyarakat Ahmedabad yang lebih banyak vegetarian sehingga sedikit sumber metionin yang mengurangi aktivitas metilasi.

Folat berperan sebagai prekursor untuk *5-methyltetrahydrofolate*, donor metil untuk remetilasi Hcy menjadi metionin (Thaler, 2014) sehingga autooksidasi Hcy yang menghasilkan disulfida teroksidasi, dua proton (H⁺) dan dua elektron (e⁻) yang merangsang pembentukan ROS tidak terbentuk (Forges *et al*, 2007; Thaler, 2014).

Pada penelitian ini, ketiadaan hubungan kadar asam folat dengan homosistein diduga disebabkan oleh kadar asam folat responden lebih tinggi dari normal. Asupan atau suplementasi folat tinggi sebelum kehamilan 20 minggu diduga berperan pada penurunan kadar homosistein. Selain itu, hal ini juga menunjukkan asam folat bukanlah prediktor utama peningkatan kadar homosistein pada preeklampsia. Masih banyak yang belum dilakukan eksplorasi pada

penelitian ini sehingga menyebabkan preeklampsia dan hiperhomosisteinemia. Insufisiensi transsulfurasi (melalui mutasi CBS atau defisiensi vitamin B6) atau hambatan pada remetilasi (defisiensi vitamin B12 atau kelainan genetik polimorfis MTHFR C677T) menyebabkan akumulasi homosistein. Gen polimorfis MTHFR C677T yang termolabil akan menurunkan 50% aktivitas enzim pada pasien dengan defisiensi folat (Forges *et al*, 2007).

6.5 Hubungan Kadar Asam Folat dengan Homosistein pada Kehamilan Normal

Dari hasil uji statistik diketahui kadar asam folat tinggi pada ibu hamil normal berkorelasi terbalik dengan kadar homosistein rendah/memiliki kecenderungan menurunkan kadar homosistein, walaupun secara statistik hubungannya lemah atau tidak berhubungan dengan nilai $r=-0,222$; $R^2=0,049$; $p=0,308$ ($p>0,05$). Hal ini menunjukkan sebesar 4,9 % kadar asam folat berkontribusi terhadap penurunan homosistein. Pada penelitian ini rerata kadar asam folat adalah $47,09\pm 13,20$ ng/mL dan rerata kadar homosistein adalah $17,80\pm 0,73$ $\mu\text{mol/L}$.

Kadar folat tinggi mungkin disebabkan oleh suplementasi folat selama kehamilan yang didapatkan saat kunjungan pemeriksaan kehamilan. Selain itu juga dipengaruhi oleh kadar folat pada kehamilan sebelumnya yang telah mencapai batas normal atau jarak paritas lebih dari 2 tahun sehingga ibu sudah memiliki cadangan folat tinggi untuk kehamilan berikutnya. Pada beberapa penelitian dilaporkan suplementasi folat berhubungan dengan rendahnya kadar homosistein (McNulty *et al*, 2013; Bondevik *et al*, 2001; Kim *et al*, 2014).

Walaupun penelitian lain gagal membuktikan adanya hubungan tersebut (Katre *et al*, 2010; Murphy *et al*, 2002).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis 0,65–10 mg/hari asam folat sendiri atau bersama dengan vitamin B12 dan/atau B6 mengurangi kadar tHcy puasa dan *post methionine load* (PML) sebesar 25-50%, baik pada subjek sehat maupun hiperhomosisteinemia dan pasien kelainan vaskular (Refsum *et al*, 1998). Secara umum, asupan folat total dari makanan dan suplemen di bawah 200-250 µg/hari berhubungan dengan hiperhomosisteinemia (Refsum *et al*, 1998). Asupan 400 µg/hari pada trimester kedua dan ketiga meningkatkan konsentrasi folat sel darah merah dan folat tali pusat serta mencegah penurunan folat serum dan menurunkan konsentrasi homosistein pada kehamilan (McNulty *et al*, 2013). Dosis yang lebih tinggi diperlukan untuk menurunkan tHcy maksimal pada kelompok dengan gangguan fungsi ginjal atau status folat rendah (Refsum *et al*, 1998). Homosistein plasma memberikan respon terhadap suplementasi asam folat dengan dosis 500-600 µg/hari (Allen, 2005).

Batas aman tertinggi untuk asupan folat tidak diketahui, tetapi biasanya dipertimbangkan hingga 1 mg/hari untuk dewasa dan tidak ada konsensus tentang konsentrasi aman tertinggi folat darah. Konsentrasi folat serum >45 nmol/L dianggap sebagai suprafisiologis (Smith, Kim, & Refsum, 2008). Kadar folat tinggi akan menyamarkan gejala defisiensi vitamin B12 (Refsum *et al*, 1998; Smith *et al*, 2008).

Konsentrasi homosistein ditentukan oleh faktor nutrisi dan genetik (Allen, 2005). Folat adalah prediktor homosistein yang paling kuat (Wallace *et al*, 2008; Holmes *et al*, 2005). Folat berfungsi menyediakan kelompok metil untuk konversi

homosistein menjadi metionin, yang bergabung dalam protein dan fungsi penting lainnya yang berhubungan dengan reaksi metilasi (Smith *et al*, 2008; Tamura & Picciano, 2006). Prediktor genetik yang paling signifikan adalah polimorfisme 677C→T pada gen yang mengkode MTHFR. Individu dengan homozigot polimorfis menurunkan aktivitas MTHFR yang mengakibatkan peningkatan homosistein (Wallace *et al*, 2008).

Faktor hormonal juga mempengaruhi kadar homosistein selama kehamilan sebagaimana yang telah dilaporkan oleh Obwegeser, Hohlagschwandtner, & Sinzinger (1999). Konsentrasi tHcy selama kehamilan diinduksi oleh hormon dan memberikan pengaruh yang lebih kuat dibandingkan vitamin dalam menurunkan konsentrasi homosistein (Murphy *et al*, 2002). Kortisol dan estrogen menyebabkan peningkatan aktivitas enzim *Hcy-methyltransferase* di hati dan metionin sintase di ginjal sehingga menyebabkan peningkatan remetilasi dari Hcy menjadi metionin (Obwegeser *et al*, 1999). Percobaan pada tikus jantan dewasa yang diberi kortisol atau estradiol atau kombinasi keduanya menunjukkan penurunan signifikan homosistein plasma. Dari percobaan ini disimpulkan bahwa kortisol lebih efektif menurunkan homosistein plasma daripada estradiol (Obwegeser *et al*, 1999).

Konsentrasi tHcy lebih rendah 29-60% pada wanita hamil dibandingkan tidak hamil dan mencapai kadar terendah pada trimester kedua kehamilan (Murphy *et al*, 2002) serta meningkat perlahan-lahan pada akhir kehamilan trimester ketiga sehingga mencapai konsentrasi sama dengan wanita tidak hamil (McNulty *et al*, 2013). Peningkatan homosistein pada akhir kehamilan adalah fenomena alami yang mempersiapkan uterus untuk persalinan dengan merangsang

kontraksi sel uterus (McNulty *et al*, 2013). Penelitian yang dilakukan pada babi kehamilan aterm menunjukkan kontraksi spontan miometrium setelah diinduksi oleh homosistein (Ayar, Tug, Celik, Ozcan, & Ozcelik, 2002). Pada penelitian ini responden kehamilan normal dengan rerata usia kehamilan $38,30 \pm 1,14$ minggu dan rerata kadar homosistein adalah $17,80 \pm 0,73$ $\mu\text{mol/L}$. Peneliti menduga peningkatan ringan kadar homosistein ini untuk merangsang kontraksi uterus namun demikian perlu dilakukan penelitian lanjut untuk membuktikannya.

Berbeda dengan hasil penelitian Bondevik *et al* (2001) menunjukkan ada hubungan kadar asam folat dengan homosistein pada kehamilan normal ($r=-0,24$, $p<0,001$). Bondevick *et al* meneliti suplementasi asam folat dan zat besi yang diberikan selama kehamilan dengan metode *cross-sectional*. Subjek yang mendapatkan suplementasi zat besi dan asam folat sebelum kunjungan antenatal pertamanya dikeluarkan dari penelitian. Dengan demikian, hasil penelitian yang diperoleh menggambarkan suplementasi kadar asam folat selama kehamilan tanpa pengaruh suplementasi asam folat sebelum hamil.

Di samping itu, perbedaan penelitian ini terletak pada *cut off point* yang digunakan untuk menentukan kadar Hcy dan asam folat. Bondevick menggunakan rerata kadar Hcy $7,5$ $\mu\text{mol/L}$ dan folat $>4,5$ nmol/L sebagai *cut off point*. Selain itu, metode pemeriksaan yang digunakan juga berbeda. Pemeriksaan kadar Hcy menggunakan metode *high performance liquid chromatography* (HPLC). Pemeriksaan asam folat menggunakan metode *magnetic separation assays* (MSA). Perbedaan pengukuran ini diduga mempengaruhi hasil yang diperoleh.

Wallace *et al* (2008) juga melaporkan ada hubungan kadar asam folat dengan homosistein pada kehamilan normal usia 28 minggu dan saat persalinan

($r=-0,278$, $p<0,001$ dan $r=-0,528$, $p<0,001$). Pada penelitian ini, Wallace *et al* membagi responden berdasarkan suplementasi asam folat yang diperoleh dan mengkaji asupan/diet menggunakan *4-d semiquantitative food diary*. Pemeriksaan kadar asam folat menggunakan metode *microbiological assay* dan kadar homosistein menggunakan metode HPLC. Perbedaan metode pemeriksaan ini diperkirakan mempengaruhi hasil penelitian.

Hasil penelitian berbeda juga dilaporkan oleh Sanchez *et al* (2001) di Peru yaitu ada hubungan antara kadar folat plasma dengan konsentrasi homosistein pada kehamilan normal. Diantara kriteria inklusi responden pada penelitian Sanchez adalah kehamilan normal preterm dan perdarahan trimester ketiga. Hal ini berbeda pada penelitian ini, dimana responden penelitian ini adalah kehamilan normal aterm (37-40 minggu) tanpa perdarahan trimester ketiga. Usia kehamilan akan mempengaruhi konsentrasi homosistein. Homosistein lebih rendah pada trimester kedua dan perlahan-lahan naik pada trimester ketiga hingga menjelang persalinan (McNulty *et al*, 2013). Perdarahan trimester ketiga akan mempengaruhi kadar asam folat karena pengeluaran dari tubuh. Perbedaan lain adalah metode pemeriksaan homosistein yang digunakan yaitu *high performance liquid chromatography* (HPLC) dan pemeriksaan asam folat menggunakan metode *radioimmunoassay* dalam keadaan puasa.

Ketiadaan hubungan pada penelitian ini diduga disebabkan oleh peningkatan ringan kadar homosistein saat kehamilan aterm. Meskipun pada penelitian ini ditemukan hiperhomosisteinemia ringan pada kehamilan normal tapi tidak menyebabkan kerusakan sel endotel sebagaimana preeklampsia. Hal ini diduga kadar folat lebih tinggi (karena asupan maupun suplementasi) ditemukan pada

responden kehamilan normal sehingga kadar folat tinggi ini mampu memelihara sel endotel. Kadar folat tinggi ini mampu mencegah radikal bebas yang terbentuk akibat autooksidasi homosistein. Folat berperan sebagai prekursor untuk 5-*methyltetrahydrofolate*, donor metil untuk remetilasi Hcy menjadi metionin (Thaler, 2014) sehingga autooksidasi Hcy yang menghasilkan disulfida teroksidasi, dua proton (H⁺) dan dua elektron (e⁻) yang merangsang pembentukan ROS tidak terbentuk (Forges *et al*, 2007; Thaler, 2014).

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

- 7.1.1 Rerata kadar asam folat pada preeklampsia lebih rendah daripada kehamilan normal
- 7.1.2 Rerata kadar homostein pada preeklampsia lebih tinggi dibandingkan dengan kehamilan normal
- 7.1.3 Terdapat korelasi negatif yang sangat lemah dan tidak signifikan antara kadar asam folat dengan homosistein pada preeklampsia
- 7.1.4 Terdapat korelasi negatif yang lemah dan tidak signifikan antara kadar asam folat dengan homosistein pada kehamilan normal.

7.2 Saran

- 7.2.1 Agar dilakukan pemeriksaan homosistein sebagai prediktor pada ibu dengan riwayat preeklampsia dalam keadaan puasa disertai kajian asupan asam folat.
- 7.2.2 Perlu diberikan suplementasi asam folat sebelum kehamilan untuk mempersiapkan luaran kehamilan yang baik.
- 7.2.3 Penelitian lebih lanjut dengan analisis multivariat yang mempertimbangkan faktor yang mempengaruhi kadar homosistein pada ibu hamil preeklampsia dan kehamilan normal seperti vitamin B6, B12, betain dan gen polimorfis MTHFR 677C→T.
- 7.2.4 Penelitian lebih lanjut dengan desain kohort pada ibu hamil trimester I sampai persalinan untuk melihat hubungan asam folat dengan homosistein selama kehamilan.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Jameil, N., Khan, FA., & Khan, MF. (2014). A Brief Overview of Preeclampsia. *J Clin Med Res*, 1-7 tersedia dalam: <http://dx.doi.org/10.4021/jocmr1682w>
- Allen, LH. (2005). Multiple micronutrients in pregnancy and lactation: an overview. *Am J Clin Nutr*, 81, 1206S-1212S tersedia dalam <http://ajcn.nutrition.org/content/81/s/1265.full>
- Ananth, CV., Keyes, KM., & Wapner, RJ. (2013). Pre-eclampsia rates in the United States, 1980-2010: age-period-cohort analysis. *BMJ* (347): f6564-72 tersedia dalam <http://doi:10.1136/bmj.f6564>
- Ayar, A., Tug, N., Celik, H., Ozcan, M., & Ozcelik, O. (2002). Homocysteine-induced augmentation of spontaneous contraction of isolated guinea pig myometrium. *Pol. J. Pharmacol*, 54, 281-284 tersedia dalam http://www.if-pan.krakow.pl/pjp/pdf/2002/3_281.pdf
- Blom, HJ., & Smulders, Y. (2011). Overview of homocysteine and folate metabolism with special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *J Inherit Metab Dis*, 75-81 tersedia dalam <http://doi.10.1007/s10545-010-9177-4>
- Bock, JL. (2007). Evaluation of Cardiac Injury and Function. dalam McPherson, RA. & Pincuss, MR. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods Twenty-First Edition* (p. 225). Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Bondevik, G., Scheede, J., Refsum, H., Lie, R., & Kvale, G. (2001). Homocysteine and methylmalonic acid levels in pregnant Nepali women. Should cobalamin supplementation be considered? *European Journal of Clinical Nutrition*, 55, 856-864 tersedia dalam <http://www.nature.com/ejcn>
- BPS, BKKBN, Kementerian Kesehatan & ICF International. (2013). *Indonesia Demographic and Health Survey 2012*. Jakarta: BPS, BKKBN, Kemenkes dan ICF International tersedia dalam <http://dhsprogram.com/pubs/pdf/FR275/FR275.pdf>
- Brantsaeter, AL., Haugen, M., Samuelson, SO., Torjusen, H., Trogstad, L., Alexander, J., et al. (2009). A dietary pattern characterized by high intake of vegetables, fruits and vegetable oils is associated with reduced risk of preeclampsia in nulliparous pregnant Norwegian women. *The Journal of Nutrition*, 1162-1168 tersedia dalam <http://doi:10.3945/jn.109.104968>

- Cerdeira, AS., & Karumanchi, S. (2012). Angiogenic factors in preeclampsia and related disorders. *Cold Spring Harb Perspect Med* , 1-18 tersedia dalam <http://www.perspectivesinmedicine.org>
- Cikot, R., Steegers-Theunissen, R., Thomas, C., de Boo, T., Merkus, H., & Steegers, E. (2001). Longitudinal vitamin and homocysteine levels in normal pregnancy. *British Journal of Nutrition* , 85, 49-58 tersedia dalam <http://doi:10.1079/BJN2000209>
- Cowles, T., Saleh, A., & Cotton, D. (1996). Hypertensive Disorders of Pregnancy. In *High Risk Pregnancy* (pp. 253-261). London: W.B Saunders Company LTD.
- Cunningham, F., Leveno, KJ., Bloom, LS., Hauth, JC., Rouse, DJ., & Spong, CY. (2010). *Williams Obstetrics 23rd edition*. New York: The McGraw-Hills Companies, Inc.
- Dahlan, M. (2009). *Besar Sampel dan Cara Pengambilan Sampel*. Jakarta: Salemba Medika.
- Dahlan, M. (2011). *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika.
- Dasarathy, J., Gruca, L., Bennett, C., Parimi, P., Duenas, C., Marczewski, S., et al. (2010). Methionine metabolism in human pregnancy. *Am J Clin Nutr* , 91, 357-365 tersedia dalam <http://doi:10.3945/ajcn.2009.28457>
- Departemen Kesehatan RI, Keputusan Menteri Kesehatan no 1593/Menkes/SK/XI/2005. *Angka Kecukupan Gizi Bagi Orang Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI tersedia dalam <http://www.depkes.go.id>
- Dharma, R., Wibowo, N., & Raranta, H.P. (2005). Disfungsi Endotel Pada Preeklampsia. *Makara Kesehatan* , pp. 63-69 tersedia dalam <http://repository.ui.ac.id/dokumen/lihat/118.pdf>
- Dodds, L., Fell, DB., Dooley, KC., Armson, A., Allen, AC., Nassar, BA., et al. (2008). Effects of homocysteine concentration in early pregnancy on gestational hypertensive disorders and other pregnancy outcome. *Clinical Chemistry* 54:2, 326-334 tersedia dalam <http://doi.10.1373/clinchem.2007.097469>
- Duley, R., Meher, S., & Abalos, E. (2006). Management of preeclampsia. *BMJ* , 463-468 tersedia dalam <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.332.7539.463>
<http://www.bmj.com/content/332/7539/463.long>

- Forges, T., Barbarino, P., Alberto, J., Rodriguez, R., Davae, J., & Gueant, J. (2007). Impact of folate and homocysteine on human reproductive health. *Human Reproduction Update*, 13 (3) tersedia dalam <http://humupd.oxfordjournals.org> <http://doi:10.1093/humupd/dm1063>
- Ganguly, P., & Alam, S. (2015). Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutrition Journal*, 14, 6-15 tersedia dalam <http://www.nutritionj.com/content/14/1/6>
- Gibson, A., Wodside, J., Young, I., Sharpe, P., Mercer, C., Patterson, C., et al. (2008). Alcohol increases homocysteine and reduces B vitamin concentration in healthy male volunteers-a randomized crossover intervention study. *QJ Med*, 101, 881-887 tersedia dalam <http://doi:10.1093/qjmed/hcn112>
- Ghozali, Imam (2009). Aplikasi Analisis Multivariat Dengan Program SPSS cetakan ke IV. Semarang: Universitas Diponegoro
- Herbold, N., & Edelstein, S. (2011). *Buku Saku Nutrisi*. (Bariid,B., Yulianti, D., Editor., Mardella, EA., & Karyuni, PE., Penerjemah.) Jakarta: EGC.
- Holmes, V., Wallace, J., Alexander, H., Gilmore, W., Bradbury, I., Ward, M., et al. (2005). Homocysteine is lower in the third trimester of pregnancy in women with enhanced folate status from continued folic acid supplementation. *Clinical Chemistry*, 51 (3), 629-634 tersedia dalam <http://doi:10.1373/clinchem.2004.032698>
- Hoque, MM., Bulbul, T., Mahal, M., Islam, NAF., & Ferdousi, M. (2008). Serum homocysteine in pre-eclampsia and eclampsia. *Bangladesh Med Res Counc Bull*, 16-20 tersedia dalam <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18783072>
- Ingec, M., Borekci, B., & Kadanali, S. (2005). Elevated plasma homocysteine concentration in severe preeclampsia and eclampsia. *Tohoku J. Exp. Med*, 206, 225-231 tersedia dalam https://www.jstage.jst.go.jp/article/tjem/206/3/206_3_225/pdf
- Isber, S. (2006). *The Role of Poor Nutritional Status and Hyperhomocysteinemia in Complicated Pregnancy in Syria*. Dissertation, University of Saarland, Faculty of Medicine, Homburg tersedia dalam <http://scidok.sulb.uni-saarland.de/voltexte/2007/1076/pdf/thesis.pdf>
- Jeyabalan, A. (2013). Epidemiology of preeclampsia: impact of obesity. *Nutr Rev*, 71 (01), 1-14 tersedia dalam <http://doi:10.1111/nure.12055>

- Jonhson, R.R. (1980). *Elementary Statistics third edition (pp.199)*. Duxbury Press. North Scituate, Massachusets.
- Joseph, J., & Loscalzo, J. (2013). Methoxistasis: Integrating the Roles of Homocysteine and Folic Acid in Cardiovascular Pathobiology. *Nutrients*, 5, 3235-3256 tersedia dalam <http://www.mdpi.com/journal/nutrients> <http://doi:10.3390/nus083235>
- Kanasaki, K., & Kalluri, R. (2009). The biology of preeclampsia. *Kidney International*, 831-837 tersedia dalam <http://www.kidneyinternational.org> <http://doi:10.1038/ki.2009.284>
- Karolczak, K., & Olas, B. (2009). Mechanism of action of homocysteine and its thiolactone in hemostasis system. *Physiol.Res*, 58, 623-633 tersedia dalam <http://www.biomed.cas.cs/physiolres>
- Karunashree, Mukhopadhyay, B.K., Gayatri, K., Chippa, S.B., & Patil, C. (2014). Study of relationship between pregnancy induced hypertension and homocysteine. *International Journal of Recent Science and Technology*, 91-94 tersedia dalam <http://www.statperson.com>
- Katre, P., Bhat, DL., Otiv, S., Joshi, S., Joglekar, C., Rush, E., et al. (2010). Vitamin B12 and folic acid supplementation and plasma total homocysteine concentrations in pregnant Indian women with low B12 and high folate status. *Asia Pac J Clin Nutr*, 335-343 tersedia dalam <http://apjn.nhri.org.tw/server/APJCN/19/3/335.pdf>
- Kim, M., Ahn, K., Ryu, KJ., Hong, SC., Lee, J., Nava-Ocampo, A., et al. (2014). Preventive effects of folic acid supplementation on adverse maternal and fetal outcome. *PLoS ONE*, 9 (5), e97273 tersedia dalam <http://www.plosone.org> <http://doi:10.1371/journal.pone.0097273>
- Lain, KY., & Roberts, JM. (2002). Contemporary Concepts of the Pathogenesis and Management of Preeclampsia. *JAMA*, pp. 3183-3186 tersedia dalam <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=195047> <http://doi:10.1001/jama.287.24.3183>
- Laksmiana, S. (2006). *Kadar Homosistein Pada Kehamilan Trimester II Sebagai Prediktor Preeklampsia*. Tesis, Universitas Diponegoro, Fakultas Kedokteran, Semarang tersedia dalam <http://core.ac.uk/download/pdf/11712788.pdf>
- Lucock, M. (2004). Is folic acid the ultimate functional food component for disease prevention? *BMJ*, 211-214 tersedia dalam <http://www.bmj.com/content/328/7433/211>

- Mabie, W., & Sibai, B. (2003). Hypertensive States of Pregnancy. dalam Decherney, AH & Nathan, L. *Current Obstetric & Gynecologic. Diagnosis & Treatment. 9th.Ed.* (pp. 338-353). New York: The Mc Graw-Hill Companies.
- Madiyono, B., Mz Moeslichan, S., Sastroasmoro, S., Budiman, I., & Purwanto, S. (2011). Perkiraan Besar Sampel. dalam Sastroamoro, S & Ismael, S *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis* (4 ed., pp. 348-382). Jakarta: Sagung Seto.
- Makedos, G., Papanicolaou, A., Hitoglou, A., Kalogiannidis, I., Makedos, A., Vrazioti, V., et al. (2007). Homocysteine, folic acid and B12 serum levels in pregnancy complicated with preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet* , 275:121-124 tersedia dalam <http://doi:10.1007/s00404-006-0203-2>
- Mayer, BH., Tucker, L., & Williams, S. (2011). *Ilmu Gizi Menjadi Sangat Mudah* (2 ed.). (N.S. Aryandhito Widhi Nugroho, Editor., & L. Dwijayanthi, Penerjemah.) Jakarta: EGC.
- Maynard, SE., & Karumanchi, S. (2011). Angiogenic factors and preeclampsia. *Semin Nephrol*, 31 (1), 33-46 tersedia dalam <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3063446/pdf/nihms272602.pdf>
- McNulty, B., McNulty, H., Marshall, B., Ward, M., Molloy, A., Scott, J., 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 trimester. *Am J Clin Nutr* , 98, 92-98 tersedia dalam <http://doi:10.3945/ajcn.112.057489>
- Megahed, M., & Taher, I. (2005). Folate and homocystein levels in pregnancy. *Journal of Continuing Education Topics and Issues*, pp. 74-77 tersedia dalam http://www.americanmedtech.org/files/step_online_articles/290.pdf
- Medina, M., Urdiales, J., & Amores-Sanchez, M. (2001). Roles of homocysteine in cell metabolism, old and new function. *Eur J. Biochem* , 268, 3871-3882 tersedia dalam <http://www.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1432-1327.2001.02278.x/pdf>
- Micle, O., Muresan, M., Anta, L., Bodog, F., & Bodog, A. (2012). The influence of homocysteine and oxidative stress on pregnancy outcome. *Journal of Medicine and Life*,(5) 68-73 tersedia dalam

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3307082/pdf/JMedLife-05-68.pdf>

- Mujawar, SA., Patil, VY., & Daver, RG. (2011). Study of serum homocysteine, folic acid and vitamin B12 in patients with preeclampsia. *Ind J Clin Biochem*, 257 – 260 tersedia dalam <http://doi:10.1007/s12291-011-0109-3>
- Murphy, M., Scott, J., McPartlin, J., & Fernandez-Ballart, J. (2002). The pregnancy-related decrease in fasting plasma homosisteine is not explained by folic acid supplementation, haemodilution, or a decrease in albumin in a longitudinal study. *Am J Clin Nutr* , 76, 614-619 tersedia dalam <http://www.ajn.nutrition.org>
- Mustafa, R., Ahmed, S., Gupta, A., & Venuto, RV. (2012). A comprehensive review of hypertension in pregnancy. *Journal of Pregnancy*, 1-19 tersedia dalam <http://www.hindawi.com/journals/jp/2012/105918> doi:10.1155/2012/105918
- Naljayan, MV., & Karumanchi, SA. (2013). New developments in the pathogenesis of preeclampsia. *Adv Chronic Kidney Dis. May; 20 (3)* , 265-270 tersedia dalam [http://www.ackdjournal.org/article/S1548-5595\(13\)00033-5/pdf](http://www.ackdjournal.org/article/S1548-5595(13)00033-5/pdf) doi:http://dx.doi.org/10.1053/j/ackd.2013.02.003
- Obwegeser, R., Hohlagschwandtner, M., & Sinzinger, H. (1999). Homocysteine-a pathophysiological cornerstone in obstetrical and gynecological disorders? *Human Reproduction Update*, 5, 64-72 tersedia dalam <http://www.humupd.oxfordjournals.org/content/5/1/64.full.pdf>
- Palei, AC., Spradley, FT., Warrington, JP., George, EM., & Granger, JP. (2013). Pathophysiology of hypertension in preeclampsia: A lesson in integrative physiology. *Acta Physiol (Oxf). July; 208(3)* , 224-233 tersedia dalam <http://doi:10.1111/apha.12106>
- Park, M., & Brewster, UC. (2007). Management of Preeclampsia. *Hospital Physician*, pp. 25-32 tersedia dalam <http://www.turner-white.com>
- Patel, AP., Chakrabarti, C., Singh, A., Patel, JD., Mewada, HA., & Sharma, S. (2012). Effect of Homocysteine, Vitamin B12, Folic Acid During Pregnancy. *NHL Journal of Medical Sciences* , 27-30 tersedia dalam <http://www.nhlmmc.edu.in/document/volume1.issue1/27-31.pdf>
- Patrick, T., Powers, R., Daftary, A., Ness, R., & Roberts, J. (2004). Homocysteine and folic acid are inversely related in black women with preeclampsia. *Hypertension*, 43, 1279-1282 tersedia dalam

<http://www.hyper.aha.journals.org>
<http://doi:10.1161/01.HYP.0000126580.81230.da>

- Powe, A., Levine, J., & Karumanchi, A. (2011). Preeclampsia: a disease of maternal endothelium: the role of anti-angiogenic factors and implications for later vascular disease. *Circulation*, *June 21; 123* , 1-27 tersedia dalam <http://www.circ.ahajournals.org/content/123/24/2856.long>
<http://doi:10.1161/CIRCULATION.109.853127>
- Rees, WD., Wilson, FA., & Maloney, CA. (2006). Sulfur Amino Acid Metabolism in Pregnancy: The Impact of Methionine in the Maternal Diet. *The Fifth Workshop on the Assessment of Adequate Intake of Dietary Amino Acids*. 136, pp. 1701S-1705S. Los Angeles: The Journal of Nutrition tersedia dalam <http://www.jn.nutrition.org>
- Refsum, H., Nurk, E., Smith, D., Ueland, PM., Gjesdal, CG., Bjelland, I., et al. (2006). The Hordaland Homocysteine Study: A community-based study of homocysteine, its determinants, and associations with disease. *JN The Journal of Nutrition*, 1731S-1740S tersedia dalam <http://www.jc.nutrition.org>
- Refsum, H., Smith, AD., Ueland, PM., Nexo, E., Clarke, RM., Johnston, CE., et al. (2004). Facts and recommendations about total homocysteine determinations: An expert opinion. *Clinical Chemistry*, 3-32 tersedia dalam <http://doi:10.1373/clinchem.2003.021634>
- Refsum, H., Ueland, P., Nygard, O., & Vollset, S. (1998). Homocysteine and Cardiovascular disease. *Annu.Rev.Medicine*, 49, 31-62 tersedia dalam <http://www.AnnualReviews.org> <http://doi:0066-4219/98/0201-0031>
- Roberts, JM., & Hubel, CA. (2009). The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta*, S32-S37 tersedia dalam <http://doi:10.1016/j.placenta.2008.11.009>
- Roberts, JM., Balk, JL., Bodnar, LM., Belizan, JM., Bergel, E., & Martinez, A. (2003). Nutrient involvement in preeclampsia. *The Journal of Nutrition* , 1684 -1692 tersedia dalam <http://www.jn.nutrition.org/133/5/1684S.full>
- Rodrigo, R., Parra, M., Bosco, C., Fernandez, V., Barja, P., Guajardo, J., et al. (2005). Pathophysiological basis for the prophylaxis of preeclampsia through early supplementation with antioxidant vitamins. *Pharmacol. Ter* , 107 (2), 177-197.
- Roeshadi, H.R. (2006). *Upaya Menurunkan Angka Kesakitan dan Angka Kematian Ibu Pada Penderita Preeklampsia dan Eklampsia*. Pidato

Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap Dalam Bidang Ilmu Kebidanan dan Penyakit Kandungan pada Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Universitas Sumatera Utara, Medan.

- Saha, S., Jahan, S., & Shakya, N. (2009). Role of hyperhomocysteinemia and folate deficiency in the development of preeclampsia and gestational hypertension. *The ORION Medical Journal*, 32 (3), 679-681.
- Salehi-PourMehr, H., Mohamad-Alizadeh, S., Malakouti, J., & Farshbaf-Khalili, A. (2012). Association of the folic acid consumption and its serum levels with preeclampsia in pregnant women. *Iran J Nurse Midwifery Res*, 17 (6), 461-466. tersedia dalam <http://www.PMCID:PMC3733294>
- Sanchez, SE., Zhang, C., Malinow, M., Ware-Jauregui, S., Larrabure, G., & Williams, M. (2001). Plasma folate, Vitamin B12 and Homocyst(e)ine concentration in preeclamptic and normotensive Peruvian women. *American Journal of Epidemiology*, 153, 474-480.
- Sangeeta, N., Shaini, L., Basar, G., Devi, S., Chuangi, V., Mandal, KK., et al. (2013). Serum Uric Acid and Homocysteine as Predictors of Preeclampsia. *J Diabetes Metab*, 259.
- Sastroasmoro, S. (2011). Pemilihan Subjek Penelitian. dalam Sastroasmoro, S & Ismael, S. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis* (2 ed., pp. 88-103). Jakarta: Sagung Seto.
- Savaj, S., & Vaziri, ND. (2012). An overview of recent advances in pathogenesis and diagnosis of preeclampsia. *Iranian Journal of Kidney Disease*, 6, 334-338.
- Schoenaker, DA., Soedamah-Muthu, SS., & Mishra, GD. (2014). The association between dietary factors and gestational hypertension and pre-eclampsia: A systematic review and meta analysis of observational studies. *BMC Medicine*, 157-174.
- Scott, J., & McNulty, H. (2008). Outcome yang Merugikan pada Kehamilan: Peranan Folat dan Vitamin B. dalam M. Gibney, B. Margetts, J. Kearney, L. Arab, P. Widyastuti, & E. Hardiyanti (Editor.), *Gizi Kesehatan Masyarakat (Public Health Nutrition)* (A. Hartono, penerjemah., pp. 348-371). Jakarta: EGC.
- Servitje, EL., Lopez, NG., & Olson, DM. (2010). An immunological insight into the origins of pre-eclampsia. *Human Reproduction Update*, 16, 510-524.
- Smith, A., Kim, Y., & Refsum, H. (2008). Is folic acid good for everyone? *Am J Clin Nutr*, 87, 517-533.

- Taddei, S., Viridis, A., Ghiadoni, L., Salvetti, G., & Salvetti, A. (2000). Endothelial dysfunction in hypertension. *J Nephrol*, 13(3):205-210. tersedia dalam <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10928297>
- Tamura, T., & Picciano, MF. (2006). Folate and human reproduction. *Am J Clin Nutr*, 993-1016. tersedia dalam <http://www.ajcn.nutrition.org>
- Tangkilisan, H. (2002). Defisiensi asam folat. *Sari Pediatri*, 4, 21-25.
- Thaler, C. (2014). Folate and human reproduction. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 74 (9), 845-851. tersedia dalam <http://www.doi:10.1055/s-00341-1383058>
- Tumbelaka, A., Riono, P., Sastroasmoro, S., Wirjodiarjo, M., Pudjiastuti, P., & Firman, K. (2011). Pemilihan uji hipotesis. dalam Sastroasmoro, S & Ismael, S. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis* (2 ed., pp. 324-347). Jakarta: Sagung Seto.
- Ubeda, N., Reyes, L., Gonzales-Medina, A., Alonso-Apperte, E., & Varela-Moreiras, G. (2011). Physiologic changes in homocysteine metabolism in pregnancy: A longitudinal study in Spain. *Nutrition*, 27, 925-930.
- Uzan, J., Carbonnel, M., Asmar, R., & Ayoubi, JM. (2011). Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis, and management. *Vascular Health and Risk Management*, 7, 467-474.
- Var, A., Yildirim, Y., Onur, E., Kuscu, NK., Uyanik, BS., Goktalay, K., et al. (2003). Endothelial dysfunction in preeclampsia increased homocysteine and decreased nitric oxide levels. *Gynecol Obstet Invest*, 221-224.
- Verloren, S., Muller, DN., Luft, FC., & Dechend, R. (2009). Immunology in hypertension, preeclampsia, and target-organ damage. *Hypertension*, 54 (3), 439-443.
- Wallace, J., Bonham, M., Strain, J., Duffy, E., Robson, P., Ward, M., et al. (2008). Homocysteine concentration, related B vitamins, and betaine in pregnant women recruited to the Seychelles Child Development Study. *Am J Clin Nutr*, 87, 391-397. tersedia dalam <http://www.ajcn.nutrition.org>
- Wang, J., Trudinger, B., Duarte, N., Wilcken, D., & Li, WX. (2000). Elevated circulating homocysteine levels in placental vascular disease and associations preeclampsia. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 107(7), 935-938.
- Wen, SW., Champagne, J., White, RR., Coyle, D., Fraser, W., Smith, G., et al. (2013). Effect of folic acid supplementation in pregnancy on

- preeclampsia: the folic acid clinical trial study. *Journal of Pregnancy*, 1-9.
- WHO. (2014). *Trends in Maternal Mortality 1990-2013 estimates by WHO, UNICEF, UNFPA, The World Bank and The United Nation Population Division*. Geneva: WHO, UNICEF, UNFPA, the World Bank, United Nation.
- Wierzbicki, A.S. (2007). Homocysteine and cardiovascular disease: a review of the evidence. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 4, 143-150.
- Williams, P., Bulmar, J., Innes, B., & Pipkin, F. (2011). Possible roles for folic acid in the regulation of trophoblast invasion and placental development in normal early human pregnancy. *Biology of Reproduction*, 84, 1148-1153.
- Ye, C., Ruan, Y., Zou, L., Li, G., Li, C., Chen, Y., et al. (2014). The 2011 Survey on Hypertensive Disorders of Pregnancy (HDP) in China: prevalence, risk factors, complications pregnancy and perinatal outcomes. *PLoS One*, 9 (6), e100180.
- Yeh, CC., Chao, KC., & Huang, S. (2012). Innate immunity, decidual cells, and preeclampsia. *Reproductive Sciences*, 20 (4), 339-353.
- Yulianti, T. (2008). Faktor-Faktor Angiogenik Sebagai Prediktor Preeklampsia (Suplemen) *Forum Diagnosticum*, 1-11.
- Yulianti, T. (2006). Homosistein dan preeklampsia (Suplemen). *Informasi Laboratorium*, 4-5.