

PERBANDINGAN KADAR ASAM FOLAT PLASMA PADA PREEKLAMPSIA DAN KEHAMILAN NORMAL

Inke Malahayati¹

¹Poltekkes Kemenkes Medan Prodi Kebidanan Pematangsiantar,
Jln Pane No. 36 Pematangsiantar 21133, Indonesia

ABSTRAK

Salah satu penyebab kematian ibu di Indonesia adalah preeklampsia. Saat ini preeklampsia merupakan penyebab kematian pada 2-3% wanita hamil di dunia. Patogenesis preeklampsia tahap I dimulai dengan plasentasi abnormal diantaranya berhubungan dengan nutrisi. Salah satu nutrisi yang dianjurkan adalah asam folat. Pada penderita preeklampsia ditemukan kadar folat yang rendah. Tujuan penelitian untuk mengetahui perbedaan kadar asam folat pada preeklampsia dan kehamilan normal.

Penelitian kasus kontrol telah dilakukan terhadap 48 orang ibu hamil (preeklampsia dan kehamilan normal), usia 20-35 tahun di RS Pemerintah Kota Padang Maret-Mei 2015. Sampel dipilih berdasarkan *consecutive sampling*. Pemeriksaan kadar asam folat dengan metode ELISA. Analisis statistik menggunakan uji T tak berpasangan. Kadar asam folat pada preeklampsia $38,86 \pm 7,80$ ng/mL dan $47,31 \pm 1,29$ ng/mL pada kehamilan normal.

Kadar asam folat pada preeklampsia lebih rendah dibandingkan kehamilan normal. Perlu diberikan suplementasi asam folat sebelum kehamilan untuk mempersiapkan luaran kehamilan yang baik.

Kata kunci: asam folat, preeklampsia, kehamilan normal

THE COMPARISON OF PLASMA FOLIC ACID LEVEL BETWEEN PREECLAMPSIA AND NORMAL PREGNANCY

ABSTRACT

One of the causes of maternal mortality in Indonesia is preeclampsia. Currently preeclampsia is the leading cause of death in 2-3% of pregnant women in the world. The pathogenesis of preeclampsia phase I begins with abnormal placentation of which relate to nutrition. One of the recommended nutrient is folic acid. In patients with preeclampsia found that low levels of folate. The aim of this research to determine differences in folic acid levels in preeclampsia and normal pregnancy.

A case control study was conducted on 48 pregnant women (preeclampsia and normal pregnancy), age 20-35 years in Padang City Government Hospital from March to May 2015. The sample was selected by consecutive sampling. Examination of folic acid levels by ELISA. Statistical analysis using unpaired t test. Folic acid levels in preeclampsia 38.86 ± 7.80 ng/mL and 47.31 ± 1.29 ng/mL in normal pregnancy.

Folic acid levels in preeclampsia lower than normal pregnancies. Should be given folic acid supplementation before pregnancy to prepare a good pregnancy outcomes.

Keywords : *folic acid, preeclampsia, normal pregnancy*

PENDAHULUAN

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).

Penyebab preeklampsia belum diketahui secara pasti. 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, Bulmar, Innes, & Pipkin, 2011).

Plasentasi yang baik memerlukan invasi trofoblas ekstravilus sempurna ke dalam arteri spiralis uterus ibu (Cunningham *et al*,
www.jurnal.ibijabar.org

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, Bulmar, Innes, & Pipkin, 2011).

Pada penderita preeklampsia ditemukan kadar folat yang rendah (Williams, Bulmar, Innes, & Pipkin, 2011). 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).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kadar asam folat pada preeklampsia dan kehamilan normal.

BAHAN DAN METODE

Desain penelitian ini adalah *case control* untuk mengetahui perbedaan kadar asam folat pada preeklampsia dan kehamilan normal. Penelitian dilaksanakan Maret – Mei 2015 di ruang bersalin dan instalasi gawat darurat RSUP Dr. M. Djamil, RSUD dr.

Rasidin dan RST dr. Reksodiwiry Padang untuk pengambilan sampel dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang untuk pemeriksaan kadar asam folat plasma.

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh 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.Reksodiwiry Padang.

Sampel adalah ibu hamil dengan preeklampsia berat dan kehamilan normal yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Adapun kriteria inklusi adalah primigravida atau multigravida dengan usia kehamilan 20 - 40 minggu yang didiagnosa preeklampsia berat dan kehamilan normal dengan usia kehamilan 37 – 40 minggu, hamil tunggal atau kembar, umur 20 – 35 tahun dan bersedia menjadi sampel dengan menandatangani *informed consent*. Kriteria eksklusi adalah ibu dengan riwayat penyakit ginjal, jantung, hipertensi dan diabetes mellitus, (Refsun *et al*, 2006) berdasarkan anamnesa dan catatan pada rekam medis.

Besar sampel pada penelitian ini adalah 48 orang (24 orang preeklampsia berat dan 24 orang kehamilan normal). Besar sampel ditetapkan berdasarkan rumus perhitungan besar sampel menggunakan dua populasi independen (Madiyono, Mz Moeslichan, Sastroasmoro, Budiman, & Purwanto, 2011) yaitu:

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

Keterangan:

S = simpangan baku kedua kelompok = 1,73

(Mujawar *et al*, 2011)

x1 – x2 = perbedaan klinis yang diinginkan = 1,46 (ditetapkan peneliti)

Zα = kesalahan tipe-1 (α) = 5% = 1,96

Zβ = kesalahan tipe-2 (β) = 20% = 0,842

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

$$n = \frac{n}{1 - f} \quad n = \frac{22}{1 - 0,1} \quad n = 24,44 = 24$$

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 48 orang (masing-masing kelompok adalah 24 orang).

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).

Penelitian ini menggunakan data primer berupa plasma darah vena responden. Alat penelitian berupa lembar observasi yang berisi hasil pemeriksaan kadar plasma asam folat. Pemeriksaan kadar asam folat menggunakan metode ELISA.

Prosedur analisis data diawali dengan pengolahan data melalui proses *editing, coding dan tabulating*. Uji normalitas data menggunakan *Shapiro Wilk*. Selanjutnya perbandingan kadar asam folat pada preeklampsia berat dan kehamilan normal menggunakan uji T tidak berpasangan. Pengolahan dan analisis data menggunakan SPSS versi 16.0 dengan interval kepercayaan 95% (α = 0,05) dan power penelitian 80%. Adapun kriteria kemaknaan yang digunakan adalah nilai p, apabila p ≤ 0,05 berarti bermakna atau signifikan dan p > 0,05 tidak bermakna secara statistik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Karakteristik subjek penelitian dapat dilihat pada tabel 1 berikut ini:

Tabel 1. Karakteristik Dua Kelompok Subjek Penelitian

Variabel	Preeklamp-sia Berat (n=24) (rerata ± SD)	Kehamilan Normal (n=24) (rerata ± SD)	P
Umur (tahun)	29,79 ± 4,32	29,08 ± 3,74	0,547 ^t
Usia kehamilan (minggu)	34,88 ± 4,51	39,12 ± 1,11	0,000 ^m
IMT sebelum hamil (Kg/m ²)	23,18 ± 4,62	23,42 ± 5,29	0,564 ^t

SD : standar deviasi
t : uji T tak berpasangan
m : uji Mann Whitney

Dari tabel 1 dapat dilihat rerata usia ibu hamil pada kelompok preeklampsia berat cenderung lebih tua dari pada kelompok kehamilan normal yaitu 29,74±4,32 tahun pada kelompok preeklampsia berat dan 29,08±3,74 tahun pada kehamilan normal. Hasil uji statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan (p>0,05) antara kedua kelompok. Rerata usia kehamilan pada preeklampsia berat lebih singkat dari pada kelompok kehamilan normal, yaitu 34,88±4,51 minggu pada preeklampsia berat dan 39,12±1,11 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 23,18±4,62 Kg/m² pada preeklampsia berat dan 23,42±5,29 Kg/m² pada kehamilan normal. Hasil uji statistik mengindikasikan tidak terdapat perbedaan antara kedua kelompok (p>0,05).

Distribusi subjek penelitian berdasarkan paritas dapat dilihat pada tabel 2:

Tabel 2. Distribusi Subjek Penelitian Berdasarkan Paritas.

Paritas	Preeklamp-sia Berat (n=24 (%))	Kehamilan Normal (n=24 (%))	p	OR
primipara	8 (33,3)	6 (25)	0,755	1,5
multipara	16 (66,7)	18 (75)		
	24 (100)	24 (100)		

Sumber: hasil penelitian

Berdasarkan tabel 2 diketahui sebanyak 8 orang (33,3%) primipara mengalami preeklampsia berat, sedangkan diantara multipara ada 16 orang (66,7%) yang mengalami preeklampsia berat. Berdasarkan uji statistik diketahui tidak ada hubungan paritas dengan preeklampsia (p>0,05). Namun demikian primipara berisiko 1,5 kali lipat mengalami preeklampsia dibandingkan multipara.

Distribusi subjek penelitian berdasarkan riwayat preeklampsia dapat dilihat pada tabel 3 berikut ini:

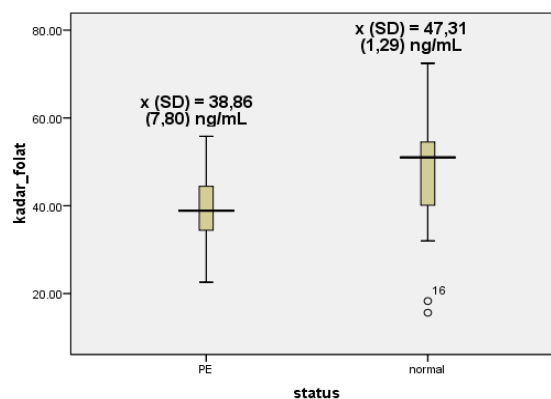
Tabel 3. Distribusi Subjek Penelitian Berdasarkan Riwayat Preeklampsia

Riwayat PEB	Preeklamp-sia Berat (n=24 (%))	Kehamilan Normal (n=24 (%))	p
Ya	4 (25)	0 (0)	0,039
Tidak	12 (75)	18 (100)	
	16 (100)	18 (100)	

Sumber : hasil penelitian

Dari tabel 3 diketahui dari 34 responden multiparitas sebanyak 4 orang (25%) dengan riwayat preeklampsia berat mengalami preeklampsia berat pada kehamilan sekarang dan sebanyak 12 orang (75%) tanpa riwayat preeklampsia berat selanjutnya menderita preeklampsia berat.

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

Gambar 1 menunjukkan bahwa rerata kadar asam folat pada preeklampsia berat lebih rendah dibandingkan dengan kehamilan normal, yaitu $38,86 \pm 7,80$ ng/mL pada preeklampsia dan $47,31 \pm 1,29$ ng/mL pada kehamilan normal. Dari hasil uji statistik terdapat perbedaan bermakna dengan $p=0,009$ ($p < 0,05$); 95% IK 2,235-14,669 dan perbedaan rerata 8,45 ng/mL.

Pembahasan

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.

Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukan pengkajian riwayat asupan harian asam folat 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). 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 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 mungkin mempengaruhi kadar asam folat.

KESIMPULAN

Rerata kadar asam folat pada preeklampsia berat lebih rendah daripada kehamilan normal. Perlu diberikan suplementasi asam folat sebelum kehamilan untuk mempersiapkan luaran kehamilan yang baik.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Jameil N, Khan FA & Khan MF. A Brief Overview of Preeclampsia. *J Clin Med Res*, 2014;1-7. tersedia dalam: <http://dx.doi.org/10.4021/jocmr1682w>

Ananth CV, Keyes KM & Wapner RJ. Preeclampsia rates in the United States, 1980-2010: age-period-cohort analysis. *BMJ*, 2013 (347): f6564-72 tersedia dalam <http://doi:10.1136/bmj.f6564>

Cunningham F, Leveno KJ, Bloom LS, Hauth JC, Rouse DJ & Spong CY. 2010. *Williams*

Obstetrics 23rd edition. New York: The McGraw-Hills Companies, Inc.

Duley R, Meher S & Abalos E. Management of preeclampsia. *BMJ*, 2006;463-468 tersedia dalam <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.332.7539.463>
<http://www.bmj.com/content/332/7539/463.long>

Holmes V, Wallace J, Alexander H, Gilmore W, Bradbury I, Ward M, et al. Homocysteine is lower in the third trimester of pregnancy in women with enhanced folate status from continued folic acid supplementation. *Clinical Chemistry*, 2005. 51 (3): 629-634 tersedia dalam <http://doi:10.1373/clinchem.2004.032698>

Kim M, Ahn K, Ryu KJ, Hong SC, Lee J, Nava-Ocampo A, et al. Preventive effects of folic acid supplementation on adverse maternal and fetal outcome. *PLoS ONE*, 2014, 9 (5), e97273 tersedia dalam <http://www.plosone.org>
<http://doi:10.1371/journal.pone.0097273>

Lain KY & Roberts JM. Contemporary Concepts of the Pathogenesis and Management of Preeclampsia. *JAMA*, 2002;3183-3186 tersedia dalam <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=195047>
<http://doi:10.1001/jama.287.24.3183>

Madiyono B, Mz Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I & Purwanto S. 2011. Perkiraan Besar Sampel. dalam Sastroasmoro, S & Ismael, S *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis* (4 ed,;48-382). Jakarta: Sagung Seto.

Makedos G, Papanicolaou A, Hitoglou A, Kalogiannidis I, Makedos A, Vrazioti V, et al. Homocysteine, folic acid and B12 serum levels in pregnancy complicated with preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet*, 2007; 275:121-124 tersedia dalam <http://doi:10.1007/s00404-006-0203-2>

McNulty B, McNulty H, Marshall B, Ward M, Molloy A, Scott J, et al. 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*, 2013;98:92-98 tersedia dalam <http://doi:10.3945/ajcn.112.057489>

Megahed M & Taher I. Folate and homocystein levels in pregnancy. *Journal of Continuing Education Topics and Issues*, 2005:74-77 tersedia dalam http://www.americanmedtech.org/files/step_on_line_articles/290.pdf

Mujawar SA, Patil VY & Daver RG. Study of serum homocysteine, folic acid and vitamin B12 in patients with preeclampsia. *Ind J Clin Biochem*, 2011: 257 – 260 tersedia dalam <http://doi:10.1007/s12291-011-0109-3>

Park M & Brewster UC. Management of Preeclampsia. *Hospital Physician*, 2007:25-32 tersedia dalam <http://www.turner-white.com>

Roeshadi HR. (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 tersedia dalam <http://www.repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/721/3/Haryono.pdf.txt>

Saha S, Jahan S & Shakya N. Role of hyperhomocysteinemia and folate deficiency in the development of preeclampsia and gestational hypertension. *The ORION Medical Journal*, 2009;32 (3), 679-681 tersedia dalam <http://www.orion-group.net/medicaljournal>

Salehi-PourMehr H, Mohamad-Alizadeh S, Malakouti J & Farshbaf-Khalili A. Association of the folic acid consumption and its serum levels with preeclampsia in pregnant women. *Iran J Nurse Midwifery Res*, 2012; 17 (6), 461-466. tersedia dalam <http://www.PMCID:PMC3733294>

Sastroasmoro S. 2011. Pemilihan Subjek Penelitian. dalam Sastroasmoro, S & Ismael, S. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis* (2 ed. :88-103). Jakarta: Sagung Seto.

Tamura T & Picciano MF. Folate and human reproduction. *Am J Clin Nutr*, 2006:993-1016.tersedia dalam <http://www.ajn.nutrition.org>

Wallace J, Bonham M, Strain J, Duffy E, Robson P, Ward M, et al. Homocysteine concentration, related B vitamins, and betaine in pregnant women recruited to the Seychelles Child Development Study. *Am J Clin Nutr*, 2008; 87: 391-397. tersedia dalam <http://www.ajn.nutrition.org>

Wen SW, Champagne J, White RR, Coyle D, Fraser W, Smith G, et al. Effect of folic acid supplementation in pregnancy on preeclampsia: the folic acid clinical trial study. *Journal of Pregnancy*, 2013:1-9 tersedia dalam <http://www.dx.doi/10.1155/2013/194312>

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 tersedia dalam <http://www.who.int/reproductivehealth/publications/monitoring/maternal-mortality-2013/en/>

Williams P, Bulmar J, Innes B & Pipkin F. Possible roles for folic acid in the regulation of trophoblast invasion and placental development in normal early human pregnancy. *Biology of Reproduction*, 2011;84:1148-1153 tersedia dalam <http://www.bioreprod.org>

Yulianti T. Homosistein dan preeklampsia (Suplemen). *Informasi Laboratorium*, 2006: 4-5.