

KADAR HOMOSISTEIN PLASMA PADA PREEKLAMPSIA DAN KEHAMILAN NORMAL

Inke Malahayati¹

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

ABSTRAK

Sindrom klinis preeklampsia diduga terjadi akibat perubahan sel endotel yang tersebar luas. Salah satu faktor yang menyebabkan kerusakan sel endotel pada preeklampsia adalah peningkatan konsentrasi homosistein. Mekanisme peningkatan kadar homosistein pada preeklampsia masih belum jelas. Diperkirakan insufisiensi ginjal, penurunan pembentukan metionin dari homosistein, kelainan metabolisme homosistein pada hati, penurunan remetilasi di seluruh tubuh dan berkurangnya vitamin B menjadi penyebab hiperhomosisteinemia pada preeklampsia. Tujuan penelitian untuk mengetahui perbedaan kadar homosistein pada preeklampsia dan kehamilan normal. Penelitian kasus kontrol telah dilakukan terhadap 46 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 homosistein dilakukan di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Unand dengan metode ELISA. Analisis statistik menggunakan uji Mann-Whitney U. Kadar homosistein pada preeklampsia adalah $18,52 \pm 0,41$ pmol/mL dan $17,80 \pm 0,73$ pmol/mL pada kehamilan normal. Kadar homosistein pada preeklampsia lebih tinggi dibandingkan kehamilan normal. Perlu dilakukan pemeriksaan homosistein sebagai prediktor pada kehamilan berisiko preeklampsia.

Kata kunci: homosistein, preeklampsia, kehamilan normal

PLASMA HOMOCYSTEINE LEVEL BETWEEN PREECLAMPSIA AND NORMAL PREGNANCY

ABSTRACT

The clinical syndrome of preeclampsia is predicted occur due to changes in the endothelial cells that spread. One of the causes of the endothelial cells damage in preeclampsia is increased concentrations of homocysteine. The mechanism of elevated levels of homocysteine in preeclampsia remains unclear. It is estimated that renal insufficiency, decreased the formation of methionine from homocysteine, abnormalities of homocysteine metabolism in the liver, decreased remethylation throughout the body and reduction of vitamin B caused hyperhomocysteinemia in preeclampsia. The aim of research to determine differences in homocysteine levels in preeclampsia and normal pregnancy. A case control study was conducted on 46 pregnant women (preeclampsia and normal pregnancy), by the aged 20-35 years old in Padang City Government Hospital from March to May 2015. The samples were selected based on consecutive sampling. The level of homocysteine was conducted in the Laboratory of Biomedical Faculty of Medicine Andalas University by ELISA method. Statistical analysis used the Mann-Whitney U test. The mean level of homocysteine in preeclampsia and normal pregnancy were $18.52 + 0.41$ pmol / mL and $17.80 + 0.73$ pmol / mL. In conclusion, Homocysteine levels in preeclampsia was higher than in normal pregnancies. Need to be examined homocysteine as a predictor of pregnancies at risk of preeclampsia.

Keywords : homocysteine, preeclampsia, normal pregnancy

PENDAHULUAN

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 *low density lipoprotein* (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 Nitrit Oksida (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).

Salah satu faktor yang menyebabkan kerusakan sel endotel pada preeklampsia adalah peningkatan konsentrasi 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).

Kadar serum homosistein maternal turun pada kehamilan normal. Penurunan plasma *total homocysteine* (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).

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

METODE PENELITIAN

Desain penelitian ini adalah *case control* untuk mengetahui perbedaan kadar homosistein 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. Reksodiwiryo Padang untuk pengambilan sampel dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang untuk pemeriksaan kadar homosistein 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.Reksodiwiryo 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 46 orang (23 orang preeklampsia berat dan 23 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 = 1,5 (ditetapkan peneliti)

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

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

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

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

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).

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 homosistein. Pemeriksaan kadar homosistein 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 homosistein pada preeklampsia berat dan kehamilan normal menggunakan uji Mann-Whitney U. Pengolahan dan analisis data menggunakan SPSS versi 16.0 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.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil

Karakteristik subjek penelitian dapat dilihat pada tabel 1 berikut ini:

Tabel 1. Karakteristik Dua Kelompok Subjek Penelitian

Variabel	Preeklamp-sia Berat (n=23) (rerata \pm SD)	Kehamilan Normal (n=23) (rerata \pm SD)	p
Umur (tahun)	29,65 \pm 4,3	28,83 \pm 3,6	0,547 ^t
Usia kehamilan (minggu)	35,17 \pm 3,48	38,3 \pm 1,14	0,000 ^m
IMT sebelum hamil (Kg/m ²)	22,6 \pm 4,32	23,4 \pm 5,09	0,564 ^t

Ket: SD: standar deviasi, t: uji T tak berpasangan, m : uji Mann Whitney
Sumber : hasil penelitian

Dari tabel 1 dapat dilihat rerata usia ibu hamil pada kelompok preeklampsia berat cenderung lebih tua dari pada kelompok kehamilan normal yaitu 29,65 \pm 4,3 tahun pada kelompok preeklampsia berat dan 28,83 \pm 3,6 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 35,17 \pm 3,48 minggu pada preeklampsia berat dan 38,3 \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 22,6 \pm 4,32 Kg/m² pada preeklampsia berat dan 23,4 \pm 5,09 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:

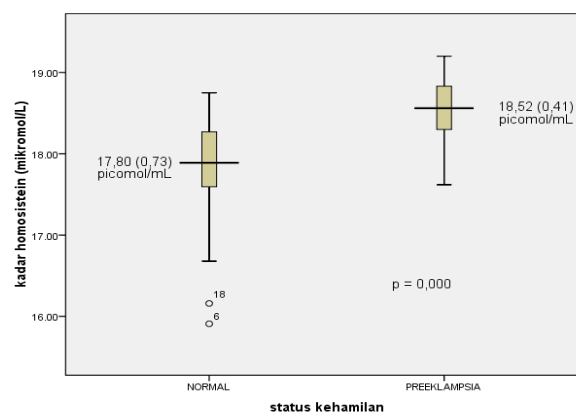
Tabel 2. Distribusi Subjek Penelitian Berdasarkan Paritas.

Paritas	Preeklamp-sia Berat (n=23 (%))	Kehamilan Normal (n=23 (%))	p	OR
primipara	8 (34,8)	6 (26,1)	0,745	1,51
multipara	15 (65,2)	17 (73,9)		
	23 (100)	23 (100)		

Sumber : hasil penelitian

Berdasarkan tabel 2 diketahui sebanyak 8 orang (34,8%) primipara mengalami preeklampsia berat, sedangkan diantara multipara ada 15 orang (65,2%) 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.

Untuk mengetahui perbedaan rerata kadar homosistein dilakukan uji Mann-Whitney U. Kadar homosistein kedua subjek penelitian ditampilkan pada grafik *boxplot* berikut ini:



Gambar. 1 Box plot rerata kadar homosistein pada kehamilan normal dan preeklampsia (rerata \pm standar deviasi)

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

2. Pembahasan

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 (Ingec *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 & Olas, 2009). Hiperhomosisteinemia menurunkan bioaktivitas NO, salah satu vasodilator utama tergantung-endotel (Taddei *et al*, 2000; Karolzack & Olas, 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 $5,50 \pm 0,85$ μ mol/L pada kehamilan normal dan $5,80 \pm 1,80$ μ 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 \rightarrow T (Refsum *et al*, 2004). Pada penelitian ini vitamin B6, B12, betain dan polimorfis MTHFR 677C \rightarrow 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.

KESIMPULAN

Kadar homosistein pada preeklampsia berat lebih tinggi daripada kehamilan normal. Perlu dilakukan pemeriksaan kadar homosistein sebagai prediktor pada ibu hamil dengan resiko preeklampsia.

DAFTAR PUSTAKA

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* www.jurnal.ibijabar.org

Management by Laboratory Methods Twenty-First Edition (p. 225). Philadelphia: Saunders Elsevier.

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.

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, Hamburg tersedia dalam <http://scidok.sulb.uni-saarland.de/voltexte/2007/1076/pdf/thesis.pdf>

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>

Laksana, 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>

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>

Refsum, H., Nurk, E., Smith, D., Ueland, PM., Gjesdal, CG., Bjelland, I., et al. (2006). The www.jurnal.ibijabar.org

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>

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 tersedia dalam http://www.repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/127276/Rodrigo_R.pdf?sequence=1

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>

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

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.nih.gov/pubmed/10928297>

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

Ubeda, N., Reyes, L., Gonzales-Medina, A., Alonso-Aperte, E., & Varela-Moreiras, G. (2011). Physiologic changes in homocysteine metabolism in pregnancy: A longitudinal study in Spain. *Nutrition*, 27, 925-930 tersedia dalam <http://www.nutritionjrnal.com>

Uzan, J., Carbonnel, M., Asmar, R., & Ayoubi, JM. (2011). Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis, and management. *Vascular Health and Risk Management*, 7, 467-474 tersedia dalam <http://www.dx.doi.org/10.2147/VHRM.S20181>

Wierzbicki, A.S. (2007). Homocysteine and cardiovascular disease: a review of the evidence. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 4, 143-150 tersedia dalam <http://www.dyr.sagepub.com/content/4/2/143>