

EFFECT OF FOLIC ACID INTAKE DURING PREGNANCY WHOSE MOTHER WAS EXPOSED TO CIGARETTE SMOKE TOWARDS BRAIN NEURONS APOPTOSIS INDEX AND QUANTITY OF MICE OFFSPRING (*Mus musculus*)

Nyna Puspita Ningrum
(Prodi DIII Kebidanan Universitas PGRI Adi Buana)

ABSTRAK

Folic acid contain 5-methyltetrahydrofolate (5-MTHF) which is one of the antioxidants that can be used to inhibit the reaction that caused by cigarette smoke exposure, inhibit the levels of Reactive Oxygen Species (ROS) so as to reduce the occurrence of neuronal apoptosis. The objectives of this study was to determine the effect of folic acid intake during pregnancy whose mother is exposed to cigarette smoke toward brain neurons apoptosis index and quantity of mice offspring (*Mus musculus*). Study methods was using experimental laboratory study with posttest-only control group design, the subjects were 24 female mice divided into 4 groups consisting of one control group and three treatment groups. Sampling using simple random sampling, each group consisting of 6 animal. control group 1 were not given treatment during pregnancy, group 2 were given folic acid orally on days 0-17 of gestation age as much as 0,06 mg/day/mice, group 3 were given cigarette smoke exposure on days 7-17 of gestation age amounting to 2 cigarettes/day, groups 4 were given cigarette smoke exposure on days 7-17 of gestation age amounting to 2 cigarettes/day and folic acid orally on days 0-17 of gestation age as much as 0,06 mg/day/mice. The result showed significant differences in all variables. In the neurons apoptosis index there are significant differences between groups 1 and 3, groups 2 and 3, groups 3 and 4, significant differences in the quantity of neurons between groups 1 and 3, groups 2 and 3, groups 2 and 4. The study concluded that there were significant difference in neural apoptosis index between all groups, and there were also significant differences in the quantity of neurons between all groups.

Keywords: Cigarette smoke exposure, Folic acid, Apoptosis index, Quantity of neurons

PENDAHULUAN

Jumlah perokok di Indonesia semakin meningkat. Data *General Agreement on Trade in Service* (GATS) menyebutkan bahwa prevalensi perokok di Indonesia sebesar 34,8%. Indonesia menempati angka tertinggi yang mempunyai jumlah laki-laki perokok terbanyak di dunia (Depkes, 2015). Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa Indonesia telah menghadapi masa kritis dengan jumlah perokok yang lebih banyak dibandingkan dengan negara lain.

Banyaknya jumlah perokok mengakibatkan jumlah orang yang terpapar asap rokok meningkat. Data dari Riskesdas pada tahun 2013 menyebutkan bahwa jumlah perokok aktif usia 10 tahun keatas terdapat 57.750.592 orang. Jumlah tersebut terdiri dari 56.860.475 perokok laki-laki dan 1.890.135 perokok perempuan (Depkes, 2015). Persentase tersebut menunjukkan bahwa perempuan lebih banyak terpapar asap rokok dibandingkan dengan laki-laki. Terdapat 59,1% dari keseluruhan anak balita terpapar asap rokok, hal tersebut menunjukkan bahwa lebih dari setengah kelompok yang terpapar asap rokok adalah kelompok yang rentan yaitu perempuan dan balita.

Perempuan terutama yang sedang hamil mempunyai risiko paparan asap rokok yang tinggi terhadap kehamilannya. Ibu hamil sebagai perokok pasif berisiko mengalami Berat Badan Lahir Rendah (BBLR) (Ramadhan, 2012). Paparan asap rokok dapat menurunkan 20% kadar asam folat di dalam tubuh, sehingga paparan asap rokok pada ibu hamil menyebabkan gangguan pertumbuhan janin di dalam kandungan (Wickstöröm, 2007). Merokok atau perokok pasif dikaitkan dengan retardasi pertumbuhan janin dan peningkatan mortalitas dan morbiditas bayi dan perinatal (Bobak *et al.*, 2005). Wanita yang mempunyai kebiasaan merokok juga berisiko mengalami kematian pre-natal atau

Sudden Infant Death Syndrome (SIDS) (Husaini, 2007). Paparan asap rokok mengaktifkan radikal bebas dan meningkatkan homosistein yang akan merusak tiga komponen molekul utama dari sel tubuh yaitu lipid, protein, dan *Deoxyribo nucleat acid* (DNA). Kerusakan yang terjadi pada lipid ditiap oksidasi dan pada proses dasar oksidasi DNA sel akan mengganggu integritas sel, sehingga akan menimbulkan kematian sel (Halliwell & Gutteridge, 2015).

Apoptosis merupakan bentuk kematian sel melalui mekanisme genetik atau merupakan kerusakan atau fragmentasi kromosom atau DNA (Sudiana, 2008). Apoptosis juga terjadi selama perkembangan normal sistem saraf pusat. Blokade reseptor *N-methyl-D-aspartame* (NMDA) glutamat beberapa jam setelah masa akhir fetus atau masa awal kehidupan neonatus dapat memicu luas penyebaran neurodegenerasi apoptosis pada otak janin yang masih berkembang, kemudian neurotransmitter glutamat yang berperan pada reseptor NMDA dapat mengontrol kehidupan neuron.

Sel neuron yang berfungsi untuk menerima, mengantarkan, maupun memproses rangsangan merupakan elemen penting yang berfungsi untuk pencetus aktivitas sel tertentu serta melepas *neurotransmitter* serta molekul penyampai informasi yang lain (Haryanto, 2010). Perkembangan sel neuron akan mempengaruhi fungsi otak sehingga diperlukan pencegahan atau penghambat reaksi yang dapat menurunkan fungsi otak.

Salah satu antioksidan yang dapat digunakan untuk menghambat reaksi yang terjadi pada paparan asap rokok tersebut, adalah asam folat. Asam folat mengandung 5-*Methyltetrahydrofolate* (5-MTHF) yang dapat menghambat kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga mampu mengurangi terjadinya apoptosis. Hal tersebut dapat membantu untuk meningkatkan perkembangan dan fungsi otak janin. Oleh karena itu asam folat diperlukan untuk penambahan gizi esensial bagi tumbuh kembang otak.

Asam folat dapat diberikan melalui asupan gizi sang ibu. Ibu hamil mempunyai kebutuhan yang lebih besar dibandingkan dengan lainnya. Tingginya kebutuhan asam folat yang diperlukan ibu hamil tersebut diperlukan untuk mengurangi risiko janin yang dikandung mengalami *Neural Tube Defect* (NTD) yaitu kelainan yang terjadi pada sistem saraf pada janin secara kontingental. Ibu hamil yang mengonsumsi asam folat dalam kadar yang cukup, dapat mengurangi risiko janin mengalami NTD sebanyak 70-80%. Oleh karena itu ibu hamil membutuhkan 600 mcg asam folat setiap hari untuk memenuhi kebutuhan tersebut dimana jumlah tersebut lebih tinggi 200 mcg dibandingkan dengan wanita yang tidak dalam masa kehamilan (Emilia, 2010).

Menurut Istiadjud (2004) mendapatkan adanya hubungan defisiensi asam folat menyebabkan jumlah sel-sel tulang kepala yang mengalami apoptosis dan nekrosis menjadi lebih banyak. Penelitian yang dilakukan Ginting (2013), terdapat penurunan intelektual pada anak menci yang dilahirkan dari induk menci bunting yang dipapar asap rokok.

Berbagai fakta tentang pengaruh maupun efek buruk dari paparan asap rokok pada kehamilan khususnya indeks apoptosis dan jumlah neuron otak bayi yang dilahirkan saat ini masih terbatas, maka penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui pengaruh pemberian asam folat selama kebuntingan yang induknya dipapar asap rokok terhadap indeks apoptosis dan jumlah neuron, karena terhalang etik maka penelitian ini dilakukan pada otak menci baru lahir.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah studi eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *posttest-only control group design*. Lokasi penelitian bertempat di Laboratorium kandang hewan coba dan Laboratorium patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penelitian ini dilakukan pada bulan 16 September – 13 Oktober 2016. Sampel Penelitian adalah hewan coba menci (*Mus musculus*) betina usia 8-10 minggu bunting dengan berat badan 20-25 gram. Pada kebuntingan hari ke-0 diberikan asam folat sampai hari ke-17. Pada hari ke-7 sampai hari ke-17 diberikan

paparan asap rokok kretek. Selanjutnya segera setelah lahir, diambil jaringan otak anak mencit untuk dilakukan pemeriksaan.

Pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan secara acak sederhana (*Simple Random Sampling*). Randomisasi dapat langsung dilakukan karena sampel diambil dari mencit yang sudah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sehingga dianggap cukup homogen. Sampel dibagi dalam 4 kelompok terdiri atas 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri atas 6 hewan coba. Dilakukan fertilisasi pada mencit yang digunakan, kelompok K1: kelompok kontrol yang diberi aquades, kelompok K2: kelompok yang diberikan asam folat secara oral pada usia 0-17 hari kebuntingan sebanyak 0,06 mg/hari/mencit, kelompok K3: kelompok yang diberikan paparan asap rokok kretek pada umur kebuntingan hari ke 7-17 sejumlah 2 batang rokok/hari, kelompok K4: kelompok yang diberi asam folat secara oral pada usia 0-17 hari kebuntingan sebanyak 0,06 mg/hari/mencit dan paparan asap rokok kretek pada umur kebuntingan hari ke 7-17 sejumlah 2 batang rokok/hari.

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas data memakai uji statistik *Shapiro-Wilk*. Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian asam folat pada mencit bunting yang dipapar asap rokok terhadap indeks apoptosis dan jumlah neuron. Data berdistribusi normal, maka menggunakan 2 sampel *oneway ANOVA* dan untuk data yang tidak berdistribusi normal menggunakan *Kruskal-Wallis*. Data hasil penelitian berdistribusi normal dianalisis dengan menggunakan korelasi *Pearson*. *Post hoc Mann-Whitney* dilakukan apabila data tidak berdistribusi normal. Batas kemaknaan adalah apabila $p \leq 0,05$ dengan 95% interval kepercayaan.

HASIL PENELITIAN

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian asam folat pada mencit bunting yang dipapar asap rokok terhadap indeks apoptosis dan jumlah neuron. Diketahui bahwa data tidak berdistribusi normal sehingga dihitung menggunakan *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *post hoc Mann-Whitney*. Batas kemaknaan adalah ($p < 0,05$) dengan 95% interval kepercayaan.

Pengaruh pemberian asam folat selama kebuntingan yang induknya dipapar asap rokok terhadap indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir

Analisis data indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir dilakukan uji normalitas dengan menggunakan dua metode, yaitu *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk*. Uji *Kolmogorov-Smirnov* pada awalnya memang diciptakan tidak untuk menguji normalitas, namun banyak pakar yang telah membuktikannya untuk menguji normalitas. Uji *Shapiro-Wilk* dianggap lebih akurat ketika jumlah subjek yang kita miliki kurang dari 50. Distribusi data dikategorikan normal apabila nilai $p > 0,05$.

Tabel 1. Hasil uji normalitas data indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistik	N	Nilai p	Statistik	N	Nilai p
Indeks apoptosis	0,164	24	0,094	0,853	24	0,003*

*Distribusi normal (signifikasi $p > 0,05$)

Tabel 1 menunjukkan bahwa indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) berdistribusi data tidak normal yang ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$ ($p = 0,003$). Maka uji hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui

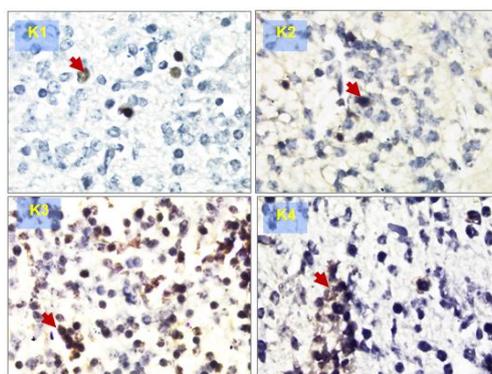
perbedaan dari seluruh kelompok dan kemudian dilanjutkan dengan analisis *post-hoc Mann-Whitney* yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan antar 2 kelompok.

Tabel 2. Hasil uji *Kruskal-Wallis* indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir

Variabel	Nilai p
Indeks apoptosis	0,003*

*Berbeda bermakna (signifikansi $p < 0,05$)

Tabel 2 hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai $p < 0,05$ ($p = 0,003$) yang berarti terdapat perbedaan rerata yang bermakna atau signifikan antar tiap kelompok indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir.



Gambar 1. Apoptosis pada otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x. Sel neurogenik yang apoptotik ditandai dengan sel neuron terwarnai coklat gelap

Apoptosis pada keadaan patologis ditandai dengan kematian sel yang dihasilkan oleh berbagai stimulasi berupa kerusakan sel. Apoptosis merupakan suatu mekanisme homeostatik untuk mempertahankan populasi sel dalam jaringan, sebagai reaksi terhadap kerusakan sel oleh penyakit.

Tabel 3. Hasil uji *post-hoc Mann-Whitney* indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir

Sampel	K1	K2	K3	K4
K1	-	0,872	0,004*	0,376
K2	0,872	-	0,004*	0,091
K3	0,004*	0,004*	-	0,010*
K4	0,376	0,091	0,010*	-

*Berbeda bermakna

Analisis data rerata indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir dengan menggunakan uji *post-hoc Mann-Whitney* pada tabel 3 menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$ yaitu antara K1 dengan K3 ($p = 0,004$), K2 dengan K3 ($p = 0,004$) dan K3 dengan K4 ($p = 0,010$).

Hasil pada tabel 3 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok yang diberi paparan asap rokok dengan kelompok kontrol (K3 dan K1), kelompok yang diberikan asam folat dengan kelompok yang diberikan paparan asap rokok (K2 dan K3), dan kelompok yang diberikan paparan asap rokok dengan kelompok yang diberikan paparan asap rokok dan asam folat (K3 dan K4).

Hasil analisis data menunjukkan bahwa indeks apoptosis pada otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir pada K4 lebih rendah dari K3, K3 indeks apoptosis otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir mengalami peningkatan drastis daripada K2, dan K1 indeks apoptosis otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir lebih sedikit dari K3. Pemberian asam folat selama kebuntingan dapat menurunkan indeks apoptosis otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir pada kondisi terpapar asap rokok.

Independensi (keterkaitan) antara 2 faktor dapat diuji dengan uji *Chi-Square*. Kita bisa menduga apakah pemberian asam folat selama kebuntingan yang induknya dipapar asap rokok tidak ada kaitannya dengan indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir, atau justru sebaliknya bahwa pemberian asam folat selama kebuntingan yang induknya dipapar asap rokok sangat terkait dengan indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir. Untuk menjawab praduga tersebut, kita bisa menggunakan uji *Chi-Square*. Hasil uji *Chi-Square* menunjukkan nilai χ^2 hitung=13,655 dan $df=3$ (yang memberikan nilai χ^2 tabel=7,815) yang berarti terdapat keterkaitan pemberian asam folat selama kebuntingan yang induknya dipapar asap rokok terhadap indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir.

Pengaruh pemberian asam folat selama kebuntingan yang induknya dipapar asap rokok terhadap jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir

Analisis data jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir dilakukan uji normalitas dengan menggunakan dua metode, yaitu *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk*. Sama seperti uji sebelumnya, uji *Shapiro-Wilk* dianggap lebih akurat apabila jumlah subjek yang kita miliki kurang dari 50. Distribusi data dikategorikan normal apabila nilai $p > 0,05$.

Tabel 4. Hasil uji normalitas data jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistik	N	Nilai p	Statistik	N	Nilai p
Jumlah neuron	0,180	24	0,043	0,913	24	0,041*

*Distribusi normal (signifikasi $p > 0,05$)

Tabel 4 menunjukkan bahwa jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) memiliki distribusi data tidak normal sehingga uji hipotesis yang digunakan adalah uji *Kruskal-Wallis* dan kemudian dilanjutkan dengan analisis *post-hoc Mann-Whitney*.

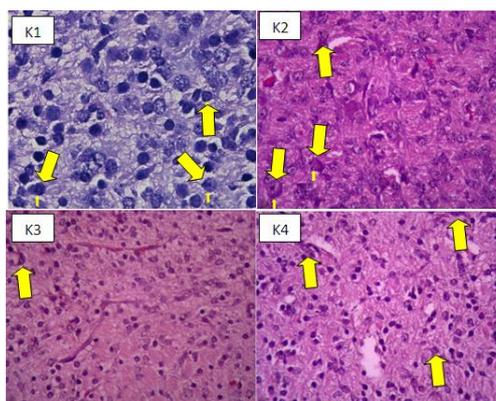
Tabel 5. Hasil uji *Kruskal-Wallis* jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir

Variabel	Nilai p
Jumlah neuron	0,002*

*Berbeda bermakna (signifikasi $p < 0,05$)

Pada tabel 5 hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai $p < 0,05$ ($p = 0,002$) sehingga terdapat perbedaan yang bermakna atau signifikan rerata jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir antar tiap kelompok. Uji *post-hoc Mann-Whitney* selanjutnya dilakukan untuk mengetahui rerata jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir yang berbeda antar kelompok.

Pada gambar 2 terlihat dengan jelas jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) pada kelompok yang hanya diberi paparan rokok (K3) memiliki jumlah neuron yang paling sedikit apabila dibandingkan dengan kelompok yang lainnya (jumlah neuron di tandai dengan anak panah kuning).



Gambar 2. Jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir menggunakan Optilab viewer 2.2 dengan pembesaran 400x.

Neuron dicirikan dengan sel yang memiliki inti yang bersifat open faced type, yang berarti anak inti atau nukleolus tampak dengan jelas dan berada di tengah.

Tabel 6. Hasil uji post-hoc Mann-Whitney jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir

Sampel	K1	K2	K3	K4
K1	-	0,261	0,010*	0,336
K2	0,261	-	0,004*	0,004*
K3	0,010*	0,004*	-	0,053
K4	0,336	0,004*	0,053	-

*Berbeda bermakna

Analisis data rerata jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir dengan menggunakan uji *post-hoc Mann-Whitney* pada tabel 6 menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$ yaitu antara K2 dengan K4 ($p = 0,004$), K2 dengan K3 ($p = 0,004$) dan K1 dengan K3 ($p = 0,010$).

Hasil analisis data menunjukkan bahwa jumlah neuron pada otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir pada K4 lebih rendah dari K2, K3 jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir mengalami penurunan drastis daripada K2, dan K1 jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir lebih banyak dari K3. Pemberian asam folat selama kebuntingan dapat meningkatkan jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir pada kondisi terpapar asap rokok.

Untuk mengetahui apakah pemberian asam folat selama kebuntingan yang induknya dipapar asap rokok tidak ada kaitannya dengan jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir, atau justru sebaliknya bahwa pemberian asam folat selama kebuntingan yang induknya dipapar asap rokok sangat terkait dengan jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir, kita bisa menggunakan uji *Chi-Square*. Hasil uji *Chi-Square* menunjukkan nilai χ^2 hitung = 14,491 dan $df = 3$ (yang memberikan nilai χ^2 tabel = 7,815) yang berarti terdapat keterkaitan pemberian asam folat selama kebuntingan yang induknya dipapar asap rokok terhadap jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir.

PEMBAHASAN

Penelitian dilakukan untuk mengetahui apakah pemberian asam folat berpengaruh terhadap indeks apoptosis dan jumlah neuron sel otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir yang induknya telah diberikan paparan asap rokok selama proses kebuntingan. Penelitian dilakukan secara eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *posttest-only control group design*. Pada penelitian ini menggunakan percobaan

laboratorium di mana terdapat dua kelompok yang masing-masing dipilih secara random atau acak. Hal yang perlu diperhatikan selama perlakuan hewan adalah keadaan gizi dan kesehatan induk mencit (*Mus musculus*) selama kebuntingan, karena cacat bawaan selain disebabkan faktor genetik juga disebabkan faktor lain seperti lingkungan atau infeksi tertentu.

Pengaruh pemberian asam folat selama kebuntingan yang induknya dipapar asap rokok terhadap indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian asam folat secara oral terhadap kelompok induk mencit (*Mus musculus*) pada usia 0-17 hari kebuntingan sebanyak 0,06 mg/hari/mencit (K2) terbukti dapat menurunkan indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol (K1). Rerata nilai indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) kelompok yang diberikan asam folat (K2) adalah 7,58 dan rerata indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) kelompok kontrol (K1) adalah 8,75. Pemberian asam folat secara oral terhadap kelompok induk mencit (*Mus musculus*) pada usia 0-17 hari kebuntingan sebanyak 0,06 mg/hari/mencit dan diberikan paparan asap rokok kretek sejak usia kebuntingan 7-17 hari sebanyak 2 batang rokok/hari (K4) terbukti dapat menurunkan indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir apabila dibandingkan dengan kelompok induk mencit (*Mus musculus*) yang diberikan paparan asap rokok dengan dosis yang sama (K3). Rerata indeks apoptosis neuron otak mencit kelompok yang diberikan asam folat dan diberi paparan asap rokok (K4) adalah 12,50 dan rerata indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) kelompok yang diberikan paparan asap rokok (K3) adalah 21,17.

Pemberian asam folat secara oral terhadap kelompok induk mencit (*Mus musculus*) pada usia 0-17 hari kebuntingan sebanyak 0,06 mg/hari/mencit menurut analisis data dengan menggunakan metode uji *post hoc Mann-Whitney* seperti pada tabel 3 menunjukkan perbedaan nilai indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$ yaitu antara kelompok yang diberi paparan asap rokok (K3) dengan kelompok kontrol (K1) ($p = 0,004$), kelompok yang diberikan asam folat (K2) dengan kelompok yang diberikan paparan asap rokok (K3) ($p = 0,004$) dan kelompok yang diberikan paparan asap rokok (K3) dengan kelompok yang diberikan asam folat dan paparan asap rokok (K4) ($p = 0,010$). Hal ini membuktikan bahwa peningkatan indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) dapat diatasi dengan pemberian asam folat.

Penelitian sebelumnya, bahwa kandungan nikotin dapat pula meningkatkan *oxidative stress*, merusak DNA, *lipid peroxide*, *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan apoptosis neuron (Mishra *et al.*, 2014). Ketidakseimbangan radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan kadar antioksidan dalam tubuh dapat meningkatkan stres oksidatif yang dapat berdampak pada terjadinya peningkatan apoptosis neuron. Asam folat yang merupakan salah satu antioksidan mengandung 5-methyltetrahydrofolate (5-MTHF) dapat menurunkan kadar ROS dan homosistein serta menurunkan terjadinya apoptosis neuron.

Berdasarkan hasil uji *Chi-Square* yang menunjukkan bahwa nilai χ^2 hitung yang didapat lebih besar daripada nilai χ^2 tabel (jumlah χ^2 hitung = 13,655 > χ^2 tabel = 7,815), maka penelitian ini membuktikan adanya keterkaitan atau pengaruh pemberian asam folat selama kebuntingan yang induknya diberikan paparan asap rokok terhadap penurunan indeks apoptosis neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir. Sehingga tidak adanya kesenjangan antara hasil penelitian dengan teori (hipotesis diterima).

Pengaruh pemberian asam folat selama kebuntingan yang induknya dipapar asap rokok terhadap jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian asam folat secara oral terhadap kelompok induk mencit (*Mus musculus*) pada usia 0-17 hari kebuntingan sebanyak 0,06 mg/hari/mencit (K2) terbukti dapat menaikkan jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*)

baru lahir apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol (K1). Rerata jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) kelompok yang diberikan asam folat (K2) adalah 19,67 dan rerata jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) kelompok kontrol (K1) adalah 15,00. Pemberian asam folat secara oral terhadap kelompok induk mencit (*Mus musculus*) pada usia 0-17 hari kebuntingan sebanyak 0,06 mg/hari/mencit dan diberikan paparan asap rokok kretek sejak usia kebuntingan 7-17 hari sebanyak 2 batang rokok/hari (K4) terbukti dapat meningkatkan jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir apabila dibandingkan dengan kelompok induk mencit (*Mus musculus*) yang diberikan paparan asap rokok dengan dosis yang sama (K3). Rerata jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) kelompok yang diberikan asam folat dan diberi paparan asap rokok (K4) adalah 10,50 dan rerata jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) kelompok yang diberikan paparan asap rokok (K3) adalah 4,83.

Pemberian asam folat secara oral terhadap kelompok induk mencit (*Mus musculus*) pada usia 0-17 hari kebuntingan sebanyak 0,06 mg/hari/mencit menurut analisis data dengan menggunakan metode uji *post hoc Mann-Whitney* seperti pada tabel 6 menunjukkan perbedaan jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$ yaitu antara kelompok yang diberikan asam folat (K2) dengan kelompok yang diberikan paparan asap rokok (K3) ($p = 0,004$), kelompok yang diberikan asam folat (K2) dengan kelompok yang diberikan asam folat dan paparan asap rokok (K4) ($p = 0,004$), kelompok yang diberikan paparan asap rokok (K3) dengan kelompok kontrol (K1) ($p = 0,010$). Hal ini membuktikan bahwa penurunan jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) dapat diatasi dengan pemberian asam folat.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Selhub *et al.* (2009), yang menunjukkan bahwa asam folat berperan dalam neurocognitive, berkenaan dengan fungsi normal otak bila terjadi defisiensi vitamin ini, akan menyebabkan disfungsi neurologik, psikologik dan menyebabkan kelainan metabolisme 1-karbon. Asam folat ini juga diperlukan untuk wanita usia subur, sehingga akan mengurangi risiko cacat bayi lahir pada pembuluh syaraf, gangguan jantung, bibir sumbing serta cacat saluran kemih pada janin (Lewis *et al.*, 1999). Asam folat yang merupakan salah satu antioksidan mengandung 5-methyltetrahydrofolate (5-MTHF) dapat menurunkan kadar ROS dan homosistein serta meningkatkan jumlah sel neuron.

Sesuai dengan hasil uji yang menunjukkan bahwa nilai x hitung yang didapat lebih besar daripada nilai x tabel (jumlah x hitung = 14,491 > x tabel = 7,815), maka penelitian ini membuktikan adanya keterkaitan atau pengaruh antara pemberian asam folat selama kebuntingan yang induknya diberikan paparan asap rokok terhadap peningkatan jumlah neuron otak mencit (*Mus musculus*) baru lahir. Berdasarkan hasil penelitian yang ada, maka dapat disimpulkan tidak adanya kesenjangan antara teori dengan hasil penelitian (hipotesis diterima).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah ada perbedaan nilai rerata indeks apoptosis dan jumlah neuron otak mencit baru lahir antara kelompok kontrol, kelompok asam folat, kelompok paparan asap rokok, dan kelompok asam folat dan paparan asap rokok. Indeks apoptosis otak mencit baru lahir yang induknya diberi asam folat dan dipapar asap rokok selama masa kebuntingan lebih rendah dari kelompok yang dipapar asap rokok dan tidak diberi asam folat. Jumlah neuron otak mencit baru lahir yang induknya diberi asam folat dan dipapar asap rokok selama masa kebuntingan lebih tinggi dari kelompok yang dipapar asap rokok dan tidak diberi asam folat.

Saran

Saran yang ada setelah mengetahui hasil penelitian ini adalah perlunya sosialisasi hasil penelitian ini, sebagai dasar pentingnya menghindari paparan asap rokok terutama

pada ibu hamil dan perlu dilakukan pengawasan antenatal yang baik pada ibu hamil yang beresiko terpapar asap rokok, disertai motivasi pentingnya mengkonsumsi asam folat secara teratur guna mengurangi resiko yang terjadi akibat paparan asap rokok.

DAFTAR PUSTAKA

- Darwanti, J. Artini, A. 2012. 'Kontribusi asam folat dan kadar haemoglobin pada ibu hamil terhadap pertumbuhan otak janin di Kabupaten Karawang'. *Jurnal Kesehatan Reproduksi*. 3(2).
- Departemen Kesehatan. 2015. 'Perilaku merokok masyarakat Indonesia'. Kementerian Kesehatan RI. (diakses 16 Maret 2016, dari <http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/infodatin/infodatin-hari-tanpa-tembakau-sedunia.pdf>).
- Departemen Kesehatan. 2015. 'Rokok illegal merugikan bangsa dan negara'. Kementerian kesehatan RI. (diakses 23 Maret 2016, dari <http://www.depkes.go.id/article/view/15060900001/rokok-illegal-merugikan-bangsa-dan-negara.html>).
- Dhanasekaran, DN. Reddy, EP. 2008. 'Jnk signaling in apoptosis'. *Oncogene* October 20.
- Ginting, JD. 2013. 'Efek paparan berbagai jenis asap rokok terhadap usia kehamilan induk mencit, berat badan lahir dan intelektual anak mencit *Mus musculus* (Swiss webster)'. Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung.
- Hermanto TJ. 2004. 'Smart babies through prenatal, University Mission Impossible?'. *Majalah obstetri dan ginekologi Indonesia*.
- Hikmah, EM. Griana, TP. 2013. 'Pengaruh paparan asap rokok terhadap kebuntingan mencit (*Mus musculus*) selama periode organogenesis'. Tesis Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Istiadjid, MES. 2004. 'Pengaruh defisiensi folat terhadap fertilitas induk dan kualitas janin tikus'. *Jurnal kedokteran Brawijaya*. 20(1).
- Lewis, CJ. Crane, NT. Wilson, DB. Yetley, EA. 1999. 'Estimated folate intakes: data updated to reflect food fortification, increased bioavailability, and dietary supplement use'. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 70. 198–207.
- Mishra, KP. Dayal, R. Singh, A. Pandey, A. 2014. 'Reactive oxygen species as mediator of tumor radiosensitivity'. *Journal of cancer research and therapeutics*. 10(4). 811-8.
- Ramadhan. 2012. 'Hubungan ibu hamil perokok pasif dengan kejadian BBLR di Badan Layanan Umum Daerah RSUB Meuraxa Banda Aceh'. *Jurnal Ilmiah STikes U'budiyah. Aceh. Vol.1.No.2. Maret 2012*.
- Riset Kesehatan Dasar. 2013. 'Riset kesehatan dasar 2013'. Kementerian Kesehatan RI
- Selhub J, Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH. 2009. 'Folate–vitamin B-12 interaction in relation to cognitive impairment, anemia, and biochemical indicators of vitamin B-12 deficiency'. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 89(2). 702S–706S.
- Wickström, R. 2007. 'Effects of nicotine during pregnancy: human and experimental evidence'. *Current Neuropharmacology*. Karolinska institutet, Sweden.
- Wisborg K, Kesmodel U, Henriksen TB, Olsen SF, Secher NJ, 2000. 'Exposure to tobacco smoke in utero and the risk of stillbirth and death in the first year of life'. *American Journal of Epidemiology*. 154(4).