

PENGARUH PEMBERIAN JUS BUAH APEL MANALAGI (*Malus sylvestris*) TERHADAP KADAR TRIGLISERIDA DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR WISTAR YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK

Reni Rabiatul Rahmat^{1*}, Bambang Suyono², Risma³

^{1,2,3}Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah

*Correspondent Author : renirahmat131196@gmail.com

ARTICLE INFO

Article history:

Submitted: February 01 2019

Received in revised form August 2019

Accepted: August 12 2019

Keywords:

Apple Fruit Juice, Triglycerides, High fat diet

ABSTRACT

Background: Manalagi apples (*Malus sylvestris*) have long been believed to have the effect of lowering blood cholesterol levels. Where the main content is quercetin class of flavonoids as antioxidants and pectin which functions as fat absorption. Methods: This study was an experimental study with a randomized post test only control group design study conducted for 28 days and using 30 rats divided into 3 groups. Results: In all groups given a high fat diet with treatment, control (-) was given a high fat diet, control (+) was given simvastatin and KP1 was given Manalagi apple juice (*Malus sylvestris*) dose of 10 ml/day. One-Way ANOVA test results from measurements of triglyceride levels showed $p = 0.139$ ($p > 0.05$) so that Manalagi apple juice (*Malus sylvestris*) did not significantly affect blood triglyceride levels of male Wistar strains (*Rattus norvegicus*) given high fat diet. Conclusion: The administration of skin juice and flesh of Manalagi apple (*Malus sylvestris*) can reduce the blood triglyceride levels of male rats (*Rattus norvegicus*) wistar strain had been given a high-fat diet before, but it was not statistically significant.

@2019 Medical and Health Science Journal. 10.33086/mhsj.v3i2.866

PENDAHULUAN

Seiring dengan perkembangan zaman serta meningkatnya tingkat kesibukan setiap individu mengakibatkan berkurangnya waktu untuk mempersiapkan serta mengontrol makanan yang dikonsumsi. Hal ini menjadikan makanan cepat saji menjadi pilihan utama untuk memenuhi kebutuhan asupan makanan sehari – hari. Makanan cepat saji biasanya mengandung lemak yang tinggi, kurang vitamin dan serat. Tetapi, hal ini seringkali diabaikan oleh sebagian orang.

Konsumsi makanan tinggi lemak ini dapat menyebabkan berbagai penyakit, seperti obesitas, resistensi insulin, hiperglikemia, abnormalitas lipid seperti peningkatan kadar trigliserida darah dan penurunan kolesterol lipoprotein berdensitas tinggi (HDL) di darah dan hipertensi. Dan yang paling di

hindari adalah penyakit kardiovaskular, yang meliputi serangan jantung, stroke, aterosklerosis dan kerusakan berbagai organ di seluruh tubuh.¹

Penyakit kardiovaskular merupakan salah satu penyebab kematian terbesar di seluruh dunia. Pada tahun 2015 penyakit ini menyebabkan sekitar 17,7 juta kematian². Selain itu, sebanyak 2.200 orang Amerika meninggal setiap harinya akibat penyakit kardiovaskular, dengan rata-rata 1 kematian terjadi setiap 40 detik. Diperkirakan 7,1 juta orang Amerika telah mengalami serangan jantung selama masa hidup mereka. Lebih dari 7 % orang Amerika memiliki beberapa jenis penyakit kardiovaskular, dan 1 dari setiap 6 kematian di Amerika Serikat adalah karena penyakit jantung koroner³.

Faktor risiko perilaku yang paling penting dari penyakit kardiovaskular dan stroke adalah diet

yang tidak sehat, aktivitas fisik yang kurang, penggunaan tembakau dan penggunaan alkohol yang berlebihan. Efek dari faktor risiko perilaku tersebut antara lain peningkatan tekanan darah, peningkatan glukosa darah, peningkatan lipid darah, dan kelebihan berat badan serta obesitas⁴. Efek yang paling sering terjadi adalah peningkatan lipid darah (hiperlipidemia). Hiperlipidemia adalah keadaan saat peningkatan kolesterol atau trigliserida serum di atas batas normal.

Kolesterol adalah lipid (lemak) yang diproduksi oleh hati dan sangat penting untuk fungsi normal tubuh. Kolesterol merupakan lipid penting yang ditemukan dalam darah manusia. Namun, ketika berlebihan dapat menyebabkan masalah kesehatan seperti aterosklerosis yang mengakibatkan infark miokard⁵.

Oleh sebab itu diperlukan tindakan dalam menurunkan maupun pencegahan peningkatan kolesterol berlebih karena dapat menyebabkan penyakit kardiovaskular. Dan menurut WHO, salah satu cara yang dapat menurunkan resiko penyakit kardiovaskular adalah mengkonsumsi buah dan sayuran⁴.

Salah satunya adalah buah apel Manalagi (*Malus sylvestris*) telah lama dipercaya memiliki khasiat menurunkan kadar kolesterol darah. Beberapa senyawa fitokimia yang ada pada buah apel dan berfungsi sebagai antioksidan adalah golongan flavonoid. Selain itu, apel mengandung betakaroten yang berfungsi sebagai provitamin A untuk mencegah serangan radikal bebas⁵.

Kandungan apel berupa zat yang berguna bagi tubuh manusia diantaranya pektin (sejenis serat), *quersetin* (bahan anti kanker dan anti radang) serta vitamin C yang tinggi merupakan sebagian alasan mengapa ahli gizi sangat menganjurkan masyarakat untuk mengkonsumsi buah Apel secara teratur. Beberapa persoalan kesehatan seperti susah buang air besar, obesitas, kolesterol tinggi, arthritis dan lainnya dapat diatasi dengan terapi buah Apel. Kandungan anti oksidan yang sangat tinggi juga menjadi alasan tingginya konsumsi buah Apel oleh masyarakat sebagai upaya pencegahan terhadap penyakit dan disfungsi kesehatan tubuh lainnya⁶. (Baskara, 2010). Berdasarkan hal tersebut, peneliti ingin melakukan

penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian jus buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris*) terhadap kadar trigliserida darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang diberi diet tinggi lemak.

METODE PENELITIAN

Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian jenis eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan penelitian *randomized post test only control group design* (Zainuddin, 2000).

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah. Tempat pembuatan sediaan dari buah apel (*Malus sylvestris*) dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hang Tuah Surabaya. Analisis sampel darah dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah. Waktu penelitian dilakukan bulan Maret 2018 – Oktober 2018.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat Penelitian

Alat – alat yang digunakan pada penelitian meliputi timbangan analitik, gelas becker, pengaduk stiler, sonde oral (pediatric feeding tube size 8), mortar dan pestle, kapas, gunting bedah, pinset, pisau, spuit 3 ml, *sample container*, sentrifuge.

Bahan Penelitian

Bahan – bahan yang digunakan pada penelitian ini, yaitu kulit beserta daging buah apel Manalagi (*Malus sylvestris*), simvastatin, pelet, aquades, pakan hiperkolestolemik, ketamin.

Pembuatan Jus Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris*)

Pembuatan jus buah apel (*Malus sylvestris*) dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hang Tuah Surabaya. Dimana 1 buah apel *Malus sylvestris* dicuci bersih terlebih dahulu, kemudian dipotong menjadi potongan - potongan

kecil tanpa harus mengupas kulitnya. Selanjutnya, buah apel dimasukan kedalam *juicer* tanpa penambahan air atau bahan lainnya. Hasil *juicer* kemudian di saring untuk memisahkan sari buah dan ampas buah apel. Dari 1 buah apel Manalagi ini didapatkan 50 ml jus, yang kemudian diberikan pada tikus secara oral dalam dosis 5 ml pada pagi hari. Dan untuk dosis 5 ml sorenya diberikan hasil *juicer* buah apel Manalagi yang baru.

Pembuatan Larutan Simvastatin

Untuk menentukan dosis simvastatin yang akan diberikan pada hewan coba adalah dengan perhitungan yang telah dikonversikan dari dosis yang biasa digunakan oleh manusia. Pada manusia, dosis maksimum simvastatin adalah 40 mg/hari (1 tablet = 10 mg), dan dosis rata – rata yang digunakan adalah 5 – 10 mg (Katzung, 2007). Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 mg yang merupakan konversi dosis dari manusia dengan berat 70 kg ke tikus 200 g adalah 0,018.

Dosis untuk manusia = 10 mg

Maka dosis untuk tikus adalah

= 10 mg x 0,018

= 0,18 mg/200 g BB tikus

= 0,09 mg/100 g BB tikus

Jadi, pemberian simvastatin adalah 0,09 mg/100 gram BB tikus setiap hari melalui sonde lambung.

Pembuatan larutan CMC-Na 1%

Larutan CMC-Na 1% digunakan sebagai pelarut obat simvastatin. Cara pembuatannya yaitu dengan cara melarutkan 1 gram CMC-Na dalam 50 ml air panas (70°C) sedikit demi sedikit, kemudian diaduk perlahan-lahan dengan menggunakan batang pengaduk hingga terbentuk larutan koloidal yang homogen. Tambahkan aquades hingga 100 ml dalam labu ukur 100 ml

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan selama 28 hari di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya. Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih (*Rattus*

norvegicus) jantan galur Wistar berumur 10 - 12 minggu yang dibagi dalam 3 kelompok : kelompok hewan coba yang diberi diet tinggi lemak, kelompok hewan coba yang diberi diet tinggi lemak dan simvastatin, dan kelompok hewan coba yang diberi diet tinggi lemak dan jus buah apel (*Malus sylvestris*) dosis 10 ml. Kadar trigliserida kelompok hewan coba K (-), K(+), dan KP1 dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 Hasil pengukuran kadar Trigliserida darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) (mg/dl)

No.	K (-) (mg/dL)	K (+) (mg/dL)	KP1 (mg/dL)
1.	106	70	55
2.	86	55	97
3.	47	35	23
4.	55	102	167
5.	90	37	60
6.	45	67	53
7.	97	49	119
8.	179	24	30
9.	117	40	
Rata - rata	91,33	53,22	75,5

Pada hari ke 28, rata – rata kadar trigliserida tertinggi terjadi pada kelompok kontrol (-) yang diberi diet tinggi lemak dengan nilai 91,33 mg/dl. Hal ini menunjukkan telah terjadi peningkatan kadar kolesterol pada hewan coba. Kemudian pada kelompok kontrol (+) dan KP1 menunjukkan terjadi penurunan kadar trigliserida dengan rata – rata 53,22 mg/dl dan 75,5 mg/dl.

Berdasarkan uji homogenitas *Levene Variances* didapatkan hasil bahwa data memiliki populasi homogen dengan nilai signifikansi $p > 0,05$. Karena data memiliki distribusi normal dan populasi yang homogen maka dilanjutkan dengan uji parametric *One Way Anova*. Uji *Anova*

terhadap kadar trigliserida serum semua kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol diperoleh nilai signifikansi $p = 0,139$ atau tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0,05$).

PEMBAHASAN

Penelitian eksperimental ini dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya. Sampel yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang berumur sekitar 2 bulan,

sehat dengan berat badan 120 – 160 sebanyak 30 ekor. Tujuan akhir dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian jus buah apel (*Malus sylvestris*) terhadap kadar trigliserida tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang diberi diet tinggi lemak. Jumlah kelompok yang digunakan adalah tiga kelompok yang terdiri dari kelompok pemberian diet tinggi lemak, kelompok pemberian diet tinggi lemak dan simvastatin, dan kelompok pemberian diet tinggi lemak dan jus buah apel (*Malus sylvestris*) dengan dosis 10 ml (5 ml pagi dan 5 ml sore hari).

Pada penelitian ini dilakukan pemberian diet tinggi lemak selama 28 hari, dimana sebelumnya diadaptasikan selama 7 hari. Selama proses adaptasi ini terdapat 1 ekor tikus mati pada kelompok perlakuan diet tinggi lemak dan kelompok perlakuan simvastatin, sedangkan pada kelompok perlakuan jus buah apel tikus mati sebanyak 2 ekor. Pemberian diet tinggi lemak ini dimaksudkan untuk meningkatkan kadar trigliserida pada semua kelompok. Dan pada hari ke-18 hewan coba diberikan perlakuan simvastatin dan jus buah apel (*Malus sylvestris*) selama 10 hari, kemudian dinilai kelompok yang berpengaruh terhadap kadar trigliserida tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*).

Peningkatan kadar trigliserida ini terjadi karena peningkatan simpanan lemak (trigliserida) baik pada tingkat intrasel dan ekstrasel. Pemberian pakan tinggi lemak juga menyebabkan peningkatan kadar kolesterol total, LDL, trigliserida, dan penurunan kadar HDL⁶.

Trigliserida yang dihasilkan dari makanan akan diemulsikan terlebih dahulu oleh asam empedu kemudian baru diserap oleh usus halus. Terdapat 2 enzim di pankreas yaitu lipase dan fosfolipase A₂. Enzim lipase bertugas dalam menghidrolisis trigliserida menjadi 1,2-digliserida dan 2-gliserida, sedangkan enzim fosfolipase A₂ akan menghidrolisis fosfolipid menjadi lemak dan *lysofosfolipid*⁷. Kemudian semua produk yang dihasilkan ini akan diangkut ke sel epitel usus dan trigliserida akan disintesis kembali. Trigliserida bersama dengan protein, fosfolipid, dan kolesterol ester akan bergabung membentuk kilomikron. Dan trigliserida dalam kilomikron ini akan dihidrolisis

oleh enzim lipoprotein lipase menjadi asam lemak dan gliserol. Asam lemak akan memasuki sel – sel jaringan, sebagian diubah menjadi energi dan sebagiannya lagi dioksidasi menjadi asetil-KoA yang merupakan prekursor pembentuk kolesterol. Proses hidrolisis (*lipolysis*) paling banyak terjadi pada jaringan adiposa yang disertai dengan pelepasan asam lemak yang ditemukan bergabung dengan albumin serum⁸.

Pada semua kelompok juga dilakukan pemberian larutan CMC-Na 1% (*Natrium Carboxymethyl Cellulose*) yang diberikan pada pagi hari untuk mencegah perut tikus kembung selama 28 hari. Selain itu pemberian jus kulit dan daging buah apel (*Malus sylvestris*) pada kelompok perlakuan dengan dosis 10 ml dengan cara pemberian 5 ml pagi dan 5 ml sore) selama 10 hari yang bertujuan untuk menurunkan kadar trigliserida pada tikus putih. Jus kulit dan daging buah apel ini mengandung flavonoid dan pektin. Pektin ini di kenal sebagai antikolesterol karena dapat mengikat asam empedu yang merupakan hasil akhir metabolisme kolesterol, makin banyak asam empedu yang berikatan dengan pektin dan terbuang keseluruhan tubuh makin banyak kolesterol yang di metabolisme, sehingga pada akhirnya kolesterol menurun jumlahnya. Apel juga berfungsi mengontrol keluarnya insulin sehingga tidak berlebihan. Karena itu, konsumsi apel secara teratur dapat menjaga keseimbangan gula darah, menurunkan kolesterol darah dan juga menurunkan tekanan darah.

Kulit apel juga mengandung flavonoid yang disebut *quercetin*, dimana *quercetin* dapat mencegah proses terjadinya oksidasi dari LDL dengan cara menangkap radikal bebas dan meningkatkan aktivitas dari LPL sehingga trigliserida yang berlebih dapat dipecah dan masuk ke jaringan. Selain itu juga terdapat kandungan vitamin B3 yang dapat menurunkan produksi VLDL di hati sehingga produksi kolesterol total, LDL, trigliserida menurun.

Pada hari ke 28 pemberian perlakuan pada setiap kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan diet tinggi lemak dan simvastatin serta kelompok perlakuan diet tinggi lemak dan jus buah apel (*Malus sylvestris*) dengan dosis 10 mg/dl

maka dilakukan pemeriksaan darah tikus. Sebelum pengambilan darah, tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 12 jam kemudian dikeluarkan dari kandang dan diberi anestesi dengan injeksi ketamin secara intramuskular dengan dosis 20 - 40 mg/KgBB. Tikus dimasukkan kembali ke dalam kandang dan ditunggu hingga anestesi tersebut bereaksi (hilang kesadaran). Setelah itu dilakukan pembedahan pada tikus dan dilakukan pengambilan darah dari jantung (*intracardial*) pada semua kelompok tikus. Masing - masing darah tikus diambil sebanyak 3 mL untuk pemeriksaan kadar trigliserida.

Dari hasil penelitian kadar trigliserida kemudian dilakukan uji normalitas, uji homogenitas dan uji One-Way ANOVA. Data hasil penelitian dari rerata dan standar deviasi kadar trigliserida kelompok hewan coba yang diberi diet tinggi lemak adalah 91,33 mg/dl dan 41,91 mg/dl. Pada kelompok hewan coba yang diberi diet tinggi lemak dan simvastatin, rerata dan standard deviasinya adalah 53,22 mg/dl dan 23,70 mg/dl. Sedangkan rerata dan standar deviasi pada kelompok pemberian diet tinggi lemak dan jus buah apel dengan dosis 10 mg/dl adalah 75,50 mg/dl dan 48,87 mg/dl. Sehingga rerata dan standar deviasi kadar trigliserida kelompok yang diberi diet tinggi lemak meningkat lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok pemberian diet tinggi lemak dan simvastatin dan kelompok pemberian diet tinggi lemak dan jus buah apel (*Malus sylvestris*). Sehingga disimpulkan telah terjadi penurunan paling banyak pada kelompok pemberian diet tinggi lemak dan simvastatin dan penurunan sedikit pada kelompok pemberian diet tinggi lemak dan jus buah apel (*Malus sylvestris*) dosis 10 mg/dl.

Hasil uji normalitas trigliserida menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada kelompok hewan coba yang diberi diet tinggi lemak sebesar $p = ,278$ ($p > 0,05$), nilai signifikansi pada kelompok hewan coba yang diberi diet tinggi lemak dan simvastatin sebesar $p = ,475$ ($p > 0,05$), dan nilai signifikansi pada kelompok hewan coba yang diberi diet tinggi lemak dan jus buah apel (*Malus sylvestris*) dosis 10 mg/dl sebesar $p = ,346$ ($p > 0,05$). Berdasarkan hasil analisis data terdapat signifikansi pada semua

kelompok ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa distribusi data adalah normal.

Analisis data dilanjutkan dengan uji homogenitas trigliserida diperoleh nilai signifikansi sebesar $p = ,188$ ($p > 0,05$) yang artinya H_0 diterima dan H_1 ditolak. Sehingga dapat disimpulkan data pada semua kelompok memiliki varian homogen, yang selanjutnya dapat dilanjutkan dengan Uji One Way Anova.

Untuk uji One-Way ANOVA trigliserida didapatkan data $p = ,139$ ($p > 0,05$). Didapatkan nilai $p > 0,05$ artinya H_0 diterima dan H_1 ditolak sehingga disimpulkan tidak terdapat perbedaan antara masing - masing kadar trigliserida kelompok hewan coba yang diberi diet tinggi lemak, kelompok hewan coba yang diberi diet tinggi lemak dan simvastatin, dan kelompok hewan coba yang diberi diet tinggi lemak dan jus buah apel (*Malus sylvestris*) dosis 10 ml. Dimana secara statistik hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan pada masing – masing kelompok hewan coba, tetapi secara data yang didapat dari rerata kadar trigliserida pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan kelompok diet tinggi lemak dan simvastatin terdapat penurunan cukup tinggi yaitu 38,11 mg/dl kadar trigliserida. Begitupula dengan kelompok KP1, dimana terbukti telah terjadi penurunan kadar trigliserida dengan nilai rerata 75,5 mg/dl bila dibandingkan dengan kelompok yang diberi diet tinggi lemak yaitu sebesar 91,33 mg/dl.

Berdasarkan hasil dari pembahasan pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian jus kulit dan daging buah apel (*Malus sylvestris*) dengan dosis 10 ml selama 10 hari dapat menurunkan kadar trigliserida namun tidak bermakna secara statistik. Dan hal ini dapat dikarenakan oleh waktu pemberian jus buah apel yang kurang lama atau bisa karena kurangnya kandungan flavonoid (*quercetin*) yang terkandung dalam buah apel oleh adanya efek dari pemakaian pestisida. Seperti yang dikatakan pada penelitian sebelumnya bahwa sistem pertanian konvensional yang menggunakan pupuk kimia buatan dan pestisida dapat menghambat antioksidan flavonoid⁹. Selain itu, juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti dosis yang digunakan untuk

menurunkan kadar trigliserida ,bentuk sediaan, dan dari segi hewan coba misalnya karena faktor genetik tikus yang berpengaruh pada kadar trigliserida tikus.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis data dari penelitian eksperimental ini, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian jus kulit dan daging buah apel Manalagi (*Malus sylvestris*) dengan dosis 10 ml dengan pembagian 5 ml pagi dan 5 ml sore hari dapat menurunkan kadar trigliserida darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang telah diberi diet tinggi lemak sebelumnya, namun secara statistik tidak bermakna.

DAFTAR PUSTAKA

1. Guyton, Arthur C. And Hall, John E. 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 12*. ECG, Jakarta.
2. World Health Organization. 2017. *WHO Cardiovascular Diseases (Cvds) Fact Sheet*, Who.
3. Go, A. S. Et Al. 2013. *Heart Disease And Stroke Statistics--2014 Update: A Report From The American Heart Association, Circulation*.
4. World Health Organization. 2017. *WHO Cardiovascular Diseases (Cvds) Fact Sheet*, Who. Available At: Cardiovascular Diseases (Cvds).
5. Susanto, W. H. And Setyohadi, B. R. 2011. "Pengaruh Varietas Apel (*Malus Sylvestris*) Dan Lama Fermentasi Oleh Khamir *Saccharomyces Cerivisiae* Sebagai Perlakuan Prapengolahan Terhadap Karakteristik Sirup", *Jurnal Teknologi Pertanian*, 12(3), Pp. 135–142.
6. Kurian, N. And Bredenkamp, C. 2013. "Reduction Of Cholesterol And Triglycerides In Volunteers Using Lemon And Apple", *International Journal Of Humanities And Social Science*, 3(18), Pp. 60–64.
7. Widmaier, Eric P.Raff, H. And Strang, K. T. 2014. *Vanders Human Physiology -The Mechanism*.
8. Murray, R.K, Mayes, P.A, Botham, K.M. 2014. *Biokimia Harper Edisi 29*. Penerbit Buku Kedokteran ECG, Jakarta.
9. Pambudi, R. 2017. "Perbedaan Panjang Serta Berat Tubuh Fetus Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur Sprague-Dawley Terhadap Pemberian Asam Folat Pada Periode Kehamilan Yang Berbeda".