



UNIVERSITAS INDONESIA

**KORELASI ANTARA JUMLAH MIKROBIOTA USUS DAN
ASUPAN ZAT GIZI IBU HAMIL TRIMESTER KETIGA
DENGAN BERAT BADAN LAHIR BAYI:
STUDI PENDAHULUAN**

TESIS

**ALEXANDER HALIM SANTOSO
1306362825**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI ILMU GIZI
JAKARTA
JULI 2015**



UNIVERSITAS INDONESIA

**KORELASI ANTARA JUMLAH MIKROBIOTA USUS DAN
ASUPAN ZAT GIZI IBU HAMIL TRIMESTER KETIGA
DENGAN BERAT BADAN LAHIR BAYI:
STUDI PENDAHULUAN**

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Magister

**ALEXANDER HALIM SANTOSO
1306362825**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI ILMU GIZI
PEMINATAN ILMU GIZI KLINIK
JAKARTA
JULI 2015**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Tesis ini adalah hasil karya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip
maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar**

Nama: Alexander Halim Santoso

NPM: 1306362825

Tanda tangan:

Tanggal: 8 Juli 2015

HALAMAN PENGESAHAN

Tugas akhir ini diajukan oleh:

Nama : Alexander Halim Santoso
NPM : 1306362825
Program Studi : Magister Ilmu Gizi
Judul Tugas Akhir : Korelasi Antara Jumlah Mikrobiota Usus dan Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi: Studi Pendahuluan

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Gizi pada Program Pascasarjana Studi Ilmu Gizi Peminatan Ilmu Gizi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. dr. Inge Permadhi, MS, SpGK ()
Pembimbing II : Prof. Dr. dr. Agus Firmansyah, SpA(K) ()
Penguji I : Dr. dr. Anis Karuniawati, PhD, SpMK(K) ()
Penguji II : dr. Nurul Ratna Mutu Manikam, MGizi, SpGK ()
Penguji III : Dr. dr. Ani Retno Prijanti, MS ()

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 8 Juli 2015

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan tesis ini. Penulisan tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Gizi pada Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia. Saya menyadari bahwa, tanpa arahan, bimbingan, koreksi, nasihat dan dorongan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Inge Permadhi, MS, SpGK selaku dosen pembimbing pertama yang telah menyediakan begitu banyak waktu, tenaga, dan kesabaran dalam membimbing, mengarahkan dan menyemangati penyusunan tesis ini.
2. Prof. Dr. dr. Agus Firmansyah, SpA(K) selaku dosen pembimbing kedua yang ditengah-tengah kesibukannya tetap meluangkan waktu untuk memberikan masukan dan bimbingan untuk penyusunan tesis ini.
3. Para penguji yaitu dr. Anis Karuniawati, PhD, SpMK(K) dan dr. Nurul Ratna Manikam, MGizi, SpGK yang sudah berkenan memberikan koreksi dan masukan terhadap tesis ini.
4. Dr. Rina Agustina, MSc., PhD yang sudah banyak membantu dan memberi bimbingan dalam penyusunan tesis ini.
5. dr. Wayan selaku Kepala Ruangan Gawat Darurat, Ibu bidan Oti dan para bidan di Puskesmas Kecamatan Pulogadung Jakarta Timur, yang telah memberikan kesempatan dan bantuan kepada saya dalam melakukan penelitian.
6. Subjek penelitian di seluruh wilayah kerja puskesmas kecamatan se Jakarta Timur yang telah bersedia berpartisipasi dalam penelitian.
7. Dr. dr. Fiastuti Witjaksono, MSc, MS, SpGK selaku Ketua Departemen Ilmu Gizi, dr. Erfi Prafiantini, MKes selaku Ketua Program Studi Ilmu Gizi, beserta seluruh staf pengajar Departemen Ilmu Gizi atas bimbingan, bantuan dan dukungan nya selama saya menjalani pendidikan dan penelitian ini.
8. Orang tua dan keluarga, yang telah memberikan dukungan moral dan moril selama saya menjalani pendidikan magister ini.

9. Teman-teman mahasiswa angkatan 2013 baik di gizi klinik maupun di gizi komunitas yang ikut terlibat dalam penelitian ini, yang selalu senantiasa menyemangati, memberi masukan dan bantuan dalam berbagai hal.
10. Staf administrasi di departmen Ilmu Gizi, mbak Heni, mbak Yuni, dan mbak Ade yang selalu siap membantu dalam proses penyelesaian tesis ini.

Saya berdoa semoga Allah Yang Maha Kuasa, berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah banyak membantu. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan juga seluruh pihak dan subjek yang terlibat dalam penelitian ini.

Jakarta, 8 Juli 2015

Alexander Halim Santoso

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alexander Halim Santoso
NPM : 1306362825
Program Studi : Ilmu Gizi
Fakultas : Kedokteran
Jenis Karya Akhir : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-Exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Korelasi Antara Jumlah Mikrobiota Usus dan Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi: Studi Pendahuluan

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta
Pada tanggal : 8 Juli 2015
Yang menyatakan

Alexander Halim Santoso

ABSTRAK

Nama : Alexander Halim Santoso
Program Studi : Ilmu Gizi
Judul : Korelasi Antara Jumlah Mikrobiota Usus dan Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi: Studi Pendahuluan

Berat badan bayi merupakan salah satu variabel epidemiologi yang berhubungan dengan mortalitas di tahun pertama kehidupan bayi. Bayi dengan berat badan lahir rendah (BBLR) maupun besar masa kehamilan (BMK) berisiko mengalami gangguan pada usia lebih lanjut. Berat badan bayi dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain asupan gizi ibu dan status gizi ibu. Asupan zat gizi yang optimal akan bermanfaat untuk mendukung perkembangan dan pertumbuhan janin. Peningkatan berat badan ibu juga merupakan faktor yang menentukan *outcome* bayi. Ibu hamil dengan peningkatan berat badan yang kurang selama kehamilan akan berisiko lebih tinggi melahirkan bayi prematur. Mikrobiota adalah kumpulan mikroorganisme yang hidup berdampingan dengan inangnya. Ditenggarai adanya peran mikrobiota terhadap berat badan lahir bayi. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Departemen Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia yang bertujuan untuk melihat korelasi antara jumlah mikrobiota usus dan asupan zat gizi ibu hamil trimester ketiga dengan berat badan lahir bayi di Jakarta Timur. Penelitian ini merupakan penelitian potong lintang yang dilakukan di 10 puskesmas kecamatan se Jakarta Timur pada bulan Februari-April 2015. Dari 315 subjek ibu hamil trimester ketiga yang sesuai kriteria inklusi dan bersedia mengikuti penelitian dengan menanda tangani *informed consent*, didapatkan 52 subjek yang dapat dianalisis. Subjek yang dapat dianalisis dilakukan pengukuran berat badan (BB), tinggi badan (TB), wawancara asupan makanan, pengukuran sampel feses dan pengukuran berat badan lahir bayi. Sebaran data karakteristik menunjukkan 82,7% subjek berpendidikan menengah rendah, 59,6% memiliki pendapatan dibawah UMP, 82,7% subjek tidak mendapatkan asupan energi yang cukup per harinya, dan 73,1% status gizi trimester pertama subjek tergolong berlebih hingga obese. Pada penelitian ini tidak didapatkan korelasi antara asupan zat gizi ibu hamil trimester ketiga dengan berat badan lahir, dan tidak didapatkan korelasi antara mikrobiota *Bifidobacterium* ($r = 0,134$; $p > 0,05$), *Lactobacillus* ($r = -0,118$; $p > 0,05$) dan *Staphylococcus* ($r = 0,43$; $p > 0,05$) ibu hamil dengan berat badan lahir bayi.

Kata kunci :

Ibu hamil trimester ketiga, mikrobiota usus, asupan zat gizi, berat badan lahir bayi

ABSTRACT

Name : Alexander Halim Santoso
Study Program : Nutrition Science
Thesis Title : Correlation between gut microbiota and nutritional status of pregnant mothers in third semester with birth weight: a preliminary study

Baby birth weight is one epidemiological variables associated with mortality in the first year of life. Both baby with low birth weight (LBW) and large for gestational age (LGA) posses risk of having complication at later age. Birth weight is affected by many factors, such as maternal nutritional intake and nutritional status. Optimal intake of nutrients would be beneficial to support fetal growth and development. Maternal weight gain is also a factor determining the outcome of baby . Pregnant women with less weight gain during pregnancy are at greater risk of premature birth. Microbiota is a group of microorganism coexist with its host. It was suspected that there is a role of the microbiota on birth weight. This study is part of the research in department of nutrition, faculty of medicine, university of Indonesia that aims to see the correlation between the number of guy microbiota and nutritional intake in third semester pregnant women with birth weight in East Jakarta. This study was a cross-sectional study conducted in 10 distriect health centers throughout East Jakarta in February to April 2015. Of the 315 subjects enrolled, 52 subjects could be analysis. Subjects were measured for body weight (BW), height, food intake interviews, fecal sample measurement and birth weight measurement. Characteristic of the subjects showed that 82,7% has middle to lower education level and 59,6% has revenue under provincial minimal wage. More than eighty percent of subjects did not receive adequate energy intake per day, and 73,1% subjects were categorized as overweight to obese. In this study, there are no correlation between nutrition intake and birth weight. There is also no correlation between gut microbiota *Bifidobacterium* ($r = 0,134$; $p > 0,05$), *Lactobacillus* ($r = -0,118$; $p > 0,05$) and *Staphylococcus* ($r = 0,43$; $p > 0,05$) and birth weight.

Key words : Third semester pregnant mothers, gut microbiota, nutritional status, birth weight

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAM PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	vii
ABSTRAK	viii
<i>ABSTRACT</i>	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
 1. PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan	4
1.3 Hipotesis	4
1.4 Tujuan penelitian	4
1.5 Manfaat penelitian	5
 2. TINJAUAN PUSTAKA	 6
2.1 Faktor-faktor yang Memengaruhi Mikrobiota Ibu Hamil	6
2.2 Faktor-faktor yang Memengaruhi Berat Badan Lahir Bayi	12
2.3 Peran Mikrobiota Ibu hamil terhadap Berat Badan Lahir bayi.....	17
2.4 Kerangka Teori	19
2.5 Kerangka Konsep	20
 3. METODE PENELITIAN	 21
3.1 Desain Penelitian	21
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.3 Populasi dan Sampel	21
3.4 Kriteria Seleksi	21
3.5 Instrumen Pengumpulan Data	23
3.6 Cara Kerja	24
3.7 Identifikasi Variabel	27
3.8 Batasan Operasional	28
3.9 Pengolahan, Analisis, Interpretasi dan Penyajian Data	32
3.10 Organisasi Penelitian	32
3.11 Alur Penelitian	33
 4. HASIL PENELITIAN	 34
4.1 Karakteristik Subjek Penelitian.....	34
4.2 Korelasi Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi.....	34

4.2 Korelasi Jumlah Mikrobiota Usus Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi	36
5. PEMBAHASAN	38
5.1 Sebaran Karakteristik Subjek.....	38
5.2 Korelasi Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi	40
5.3 Korelasi Jumlah Mikrobiota Usus Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi	41
Keterbatasan Penelitian	42
6. KESIMPULAN & SARAN.....	43
DAFTAR REFERENSI	44
LAMPIRAN	51
<i>MANUSCRIPT</i>.....	69
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	77

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1 Rekomendasi Kenaikan Total dan Rerata Kenaikan Berat Badan selama Kehamilan berdasarkan IMT sebelum hamil Dari <i>Institute of Medicine</i>	15
Tabel 3.1 Matriks Variabel Indikator	27
Tabel 3.2 Klasifikasi Tingkat Pendidikan	28
Tabel 3.3 Klasifikasi Indeks Massa Tubuh	29
Tabel 3.4 Peningkatan Berat Badan Selama Kehamilan berdasarkan IMT dan Klasifikasi Kenaikan Berat Badan	30
Tabel 3.5 Klasifikasi Asupan Energi	30
Tabel 3.6 Klasifikasi Berat Badan Lahir Bayi	32
Tabel 4.1 Sebaran Karakteristik Subjek	35
Tabel 4.2 Korelasi Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi	35
Tabel 4.3 Perbedaan Jumlah Mikrobiota Usus Ibu Hamil Trimester Ketiga Dengan Status Gizi Ibu Trimester Pertama	36
Tabel 4.4 Perbedaan Jumlah Mikrobiota Usus Ibu Hamil Trimester Ketiga Dengan Peningkatan Berat Badan Selama Kehamilan.....	36
Tabel 4.5 Korelasi Jumlah Mikrobiota Usus Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi	37

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Kerangka Teori Korelasi antara Jumlah Mikrobiota Usus dan Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi	19
Gambar 2.2 Kerangka Konsep Korelasi antara Jumlah Mikrobiota Usus Dan Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi	20
Gambar 3.3 Alur Penelitian	33

DAFTAR SINGKATAN

AIDS	: <i>Acquired immune deficiency syndrome</i>
ANC	: <i>antenatal care</i>
ASI	: air susu ibu
BB	: berat badan
BBLR	: berat badan lahir rendah
CFU	: <i>colony forming unit</i>
DKI	: Daerah Khusus Ibukota
DM	: diabetes melitus
FAO	: Food and Agriculture Organization
HIV	: <i>Human immune deficiency virus</i>
IDAI	: Ikatan Dokter Anak Indonesia
IOM	: Institute of Medicine
IMT	: indeks massa tubuh
BMK	: besar masa kehamilan
KMK	: kecil masa kehamilan
SMK	: sesuai masa kehamilan
NCB	: neonatus cukup bulan
NSP	: <i>non starch polysaccharide</i>
NTB	: no template controle
PBB	: Perserikatan Bangsa Bangsa
PCR	: <i>polymerase chain reaction</i>
qRT	: <i>quantitative real time</i>
RELM β	: <i>Resistin-like molecule β</i>
Riskesdas	: riset kesehatan dasar
RS	: <i>resistant starch</i>
UMP	: upah minimum provinsi
URT	: ukuran rumah tangga
WHO	: World Health Organization
WUS	: Wanita usia subur

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Formulir A	Lembar seleksi subjek penelitian 47
Formulir B	Lembar informasi penelitian 48
Formulir C	Lembar persetujuan menjadi subjek penelitian 50
Formulir D	Formulir karakteristik subjek penelitian 51
Formulir E	Lembar pemeriksaan antropometri 52
Formulir F	Formulir <i>Food Frequency Questionaere</i> 53
Formulir G	Lembar hasil pemeriksaan <i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , dan <i>Staphylococcus</i> usus 54
Formulir H	Lembar hasil penimbangan berat badan bayi..... 55
Lampiran 2.	Cara Kerja Pemeriksaan Mikrobiota 60
Lampiran 3.	Kaji Etik 66
Lampiran 4.	Tabel Asupan Zat Gizi Subjek 67

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berat badan bayi merupakan salah satu variabel epidemiologi yang berhubungan erat dengan risiko mortalitas di tahun pertama kehidupan bayi, masalah tumbuh kembang anak dan berbagai penyakit di masa dewasa.¹ Berat badan lahir rendah (BBLR) adalah berat badan lahir kurang dari 2500 gram dan berhubungan dengan 60-80% kematian neonatal.² Menurut WHO, setiap tahun ada 20 juta bayi yang lahir dengan BBLR, 96,5% di antaranya ditemukan di negara-negara berkembang. Menurut data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013, masih terdapat 10,2% bayi dengan BBLR di Indonesia, dan khususnya di provinsi DKI Jakarta, jumlah bayi BBLR dalam tiga tahun meningkat dari 9.1% (2010) menjadi 9.3% (2012).³

Luas area Jakarta Timur adalah 188,03 km², terdiri dari 10 kecamatan, memiliki jumlah ibu hamil sebesar 46,524 orang, dengan jumlah kelahiran bayi hidup sebanyak 42,021 bayi. Bayi dengan BBLR terutama bayi prematur berisiko menderita ketidakmatangan sistem organ, sehingga cenderung mudah terkena infeksi dan meningkatkan risiko komplikasi.³ Di sisi lain, bayi yang dilahirkan cukup bulan tetapi dengan berat badan besar masa kehamilan (BMK) berisiko menderita obesitas dan penyakit degeneratif di usia dewasa.⁴ Berdasarkan data Riskesdas 2013, prevalensi obesitas pada anak usia 5-12 tahun sebesar 10,8%.³

Berat badan lahir bayi dipengaruhi oleh banyak faktor, di antaranya adalah asupan zat gizi, status gizi ibu hamil, rokok, penyakit yang diderita ibu, mikrobiota usus dan lain-lain. Asupan nutrisi yang optimal pada ibu hamil bermanfaat untuk mendukung perkembangan dan pertumbuhan janin. Selama kehamilan, kebutuhan energi dan zat gizi meningkat untuk mendukung metabolisme, peningkatan volume darah, ekspansi eritrosit dan transfer zat gizi ke janin.⁵ Asupan zat gizi berhubungan erat dengan status gizi ibu. Status gizi ibu yang buruk sebelum kehamilan maupun pada saat kehamilan berisiko menyebabkan bayi lahir dengan BBLR,^{6,7} sedangkan ibu hamil yang obesitas berisiko melahirkan bayi dengan BMK.^{4,6} Selain faktor asupan gizi dan status gizi ibu, peningkatan berat badan ibu selama kehamilan juga merupakan faktor penting yang menentukan *outcome* bayi. Ibu hamil dengan peningkatan berat badan (BB) yang kurang selama kehamilan memiliki risiko lebih

tinggi untuk melahirkan bayi prematur dibandingkan dengan ibu dengan peningkatan BB normal.⁸ Dalam hal ini, asupan zat gizi yang tidak adekuat mempengaruhi ketersediaan energi untuk janin. Energi merupakan faktor determinan utama terhadap peningkatan BB selama kehamilan. Angka Kecukupan Gizi (AKG) 2013 merekomendasikan kebutuhan energi selama kehamilan adalah sebesar 2450 - 2550 kkal/ hari.³

Mikrobiota adalah kumpulan mikroorganisme yang hidup berdampingan dengan inangnya. Terdapat sekitar 10^{14} mikrobiota di dalam tubuh manusia dan paling banyak ditemukan di dalam saluran cerna.⁹ Saluran cerna manusia dewasa didominasi oleh *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*. *Bifidobacteria* yang tergolong ke dalam *Actinobacteria* serta *Lactobacillus* dan *Staphylococcus* yang tergolong ke dalam *Firmicutes* merupakan mikrobiota yang banyak ditemukan di dalam saluran cerna. Proses kehamilan mengubah komposisi mikrobiota. Koren dkk.¹⁰ menemukan peningkatan jumlah *Proteobacteria* dan *Actinobacteria* pada trimester ketiga dibandingkan pada trimester pertama. Diperkirakan terdapat peran mikrobiota terhadap berat badan lahir bayi, namun peran tersebut belum banyak diteliti. Dalam hal ini hanya didapatkan satu penelitian yang menghubungkan hal tersebut. Santacruz dkk.¹¹ menemukan adanya hubungan positif antara jumlah *E.coli* dan *C.coccoides* dengan berat badan lahir bayi. *Bifidobacterium* merupakan mikrobiota yang pertama kali berkolonisasi di saluran cerna bayi, yang selanjutnya diikuti oleh mikrobiota lain seperti *Lactobacillus* dan *Staphylococcus*. Collado dkk.¹² menemukan korelasi positif bermakna antara jumlah *Bifidobacteria*, dan *Staphylococcus* pada sampel feses bayi berusia 6 bulan terhadap IMT ibu dan pada bayi dengan berat badan lebih rendah ditemukan jumlah *Bifidobacteria* yang lebih banyak dibandingkan dengan bayi dengan berat badan lebih. Sejauh yang diketahui, belum ada penelitian di Indonesia yang mengkaji hubungan antara mikrobiota usus ibu hamil trimester ketiga dengan berat badan lahir bayi sehingga hal itu menjadi dasar dilakukannya penelitian ini.

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Departemen Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia yang berjudul “Peran Gizi, *Maternal Factors*, dan Pelayanan Kesehatan pada Fetal Programming terhadap Komposisi Mikrobiota dan Berat Badan Lahir: Studi Kohort di Jakarta Timur, DKI Jakarta, 2014.” Studi

ini mengambil subjek ibu hamil berusia 19-44 tahun yang berdasarkan profil kesehatan Kesehatan DKI Jakarta merupakan batas usia dewasa. Berdasarkan Riskesdas 2013, batas bawah usia dewasa adalah 19 tahun, sedangkan usia 44 tahun merupakan batas usia seorang perempuan sebelum masuk ke dalam kelompok usia lanjut.³

1.2 Permasalahan

1.2.1 Identifikasi Masalah

1. Prevalensi bayi dengan BBLR dan BMK masih cukup tinggi.
2. Berat badan lahir bayi dipengaruhi oleh asupan zat gizi ibu hamil.
3. Perubahan jumlah mikrobiota usus ibu hamil pada kehamilan trimester ketiga.
4. Penelitian tentang korelasi jumlah mikrobiota usus ibu hamil trimester ketiga dengan berat badan lahir bayi belum pernah dilakukan di Indonesia.

1.2.2 Perumusan Masalah

1. Bagaimana asupan zat gizi ibu hamil?
2. Bagaimana jumlah mikrobiota usus ibu hamil trimester ketiga?
3. Bagaimana hubungan antara asupan zat gizi dan jumlah mikrobiota ibu hamil trimester ketiga dengan berat badan lahir bayi?

1.3 Hipotesis

1. Terdapat korelasi antara asupan zat gizi ibu hamil trimester ketiga dengan berat badan lahir bayi.
2. Terdapat korelasi antara jumlah mikrobiota usus ibu hamil dengan berat badan lahir bayi.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Diketuinya korelasi antara jumlah mikrobiota usus dan asupan zat gizi ibu hamil trimester ketiga dengan berat badan lahir bayi.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Diketuinya korelasi antara asupan zat gizi ibu hamil trimester ketiga dengan berat badan lahir bayi.
2. Diketuinya korelasi antara mikrobiota *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, dan *Staphylococcus* ibu hamil trimester ketiga dengan berat badan lahir bayi

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat bagi subjek penelitian

Subjek penelitian dapat mengetahui hal-hal yang diperlukan untuk mencegah kejadian BBLR maupun BMK.

1.5.2 Manfaat bagi institusi pendidikan dan penelitian

Hasil penelitian dapat dijadikan data dasar untuk penelitian lebih lanjut dalam tatalaksana pencegahan bayi dengan BBLR maupun BMK dan peran mikrobiota terhadap kesehatan bayi dan anak.

1.5.3 Manfaat bagi peneliti

1. Sebagai sarana bagi peneliti menerapkan keilmuan yang didapatkan selama masa perkuliahan
2. Sebagai sarana meningkatkan kemampuan berinteraksi peneliti dengan masyarakat
3. Sebagai data dasar bagi peneliti untuk dikembangkan menjadi penelitian lebih lanjut.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Faktor-Faktor yang Memengaruhi Mikrobiota Ibu Hamil

Mikrobiota adalah kumpulan mikroorganisme yang hidup berdampingan dengan *host*-nya. Di dalam tubuh manusia diperkirakan ada sebanyak 10^{14} mikrobiota, dan kolonisasi mikrobiota yang paling padat terdapat di saluran cerna.⁹ Sebagian besar mikrobiota saluran cerna merupakan mikrobiota anaerob, dan didominasi oleh dua jenis mikrobiota yaitu *Bacteroides* dan *Firmicutes*. Sejumlah kecil lainnya terdiri atas *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* dan *Cyanobacteria*.⁹

Selama proses kehamilan normal, tubuh mengalami perubahan hormonal, imunologis, metabolik yang menyerupai kondisi pada diabetes melitus dan sindrom metabolik. Pada awal kehamilan, jumlah lemak tubuh meningkat disertai dengan berkurangnya sensitivitas insulin. Berkurangnya sensitivitas insulin berhubungan dengan perubahan status imun pada kehamilan. Perubahan status imun diduga mencetuskan perubahan metabolik dan pada akhirnya menyebabkan obesitas.¹⁰ Cani dkk.¹³ menyatakan kemungkinan adanya peran mikrobiota saluran cerna dalam menyebabkan perubahan metabolik pada wanita tidak hamil dengan obesitas.

Sejalan dengan peningkatan usia kehamilan, komposisi dan jumlah mikrobiota di dalam saluran cerna juga berubah. Koren dkk.¹⁰ melaporkan bahwa terjadi peningkatan jumlah mikrobiota dari sejak kehamilan trimester 1 sampai trimester 3. Namun sejauh ini, penyebab dan proses terjadinya perubahan tersebut terjadi belum banyak dilaporkan dan masih membutuhkan penelitian lebih lanjut.

2.1.1 Peran Asupan Zat Gizi terhadap Mikrobiota Ibu Hamil

Asupan zat gizi merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi keragaman dan fungsi mikrobiota saluran cerna. Perbedaan jenis diet akan mempengaruhi pertumbuhan dan jenis mikrobiota di dalam saluran cerna.¹⁴

Kurang lebih 40 gram karbohidrat dari makanan akan mencapai kolon setiap harinya. Jenis karbohidrat ini yaitu *resistant starch* (RS), *non-starch polysaccharide* (NSP) dan oligosakarida. Fermentasi karbohidrat oleh mikrobiota

akan menghasilkan asam lemak rantai pendek, yaitu asetat, propionat dan butirat dengan rasio asetat:propionat:butirat sebesar 3:1:1.^{15,16} Butirat merupakan sumber energi utama untuk sel-sel kolonosit, propionat akan ditranspor ke hepar dan ikut berperan dalam glukoneogenesis, dan asetat akan digunakan untuk lipogenesis.¹⁷

Duncan dkk.¹⁸ melaporkan perubahan komposisi mikrobiota saluran cerna terkait dengan asupan karbohidrat rendah. Subjek penelitian adalah 20 laki-laki *obese* yang dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok satu dengan asupan diet 30% protein, 4% karbohidrat dan 66% lemak per hari dan kelompok dua dengan asupan diet 30% protein, 35% karbohidrat dan 35% lemak per hari. Diperkirakan dalam kandungan karbohidrat ini terkandung *non-starch polysaccharide* sebesar 6 gram/hari pada kelompok satu dan 12 gram/hari pada kelompok dua. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa penurunan jumlah *Bifidobacteria* dan *Clostridium* secara signifikan bersamaan dengan berkurangnya asupan karbohidrat.

Sekitar 12-18 gram protein, yang terdiri dari residu protein dari makanan dan enzim-enzim saluran cerna akan mencapai kolon setiap harinya. Kolon merupakan tempat protein *turnover* yang aktif oleh mikrobiota, di mana hasil pemecahan tersebut akan menghasilkan nitrogen dan asam amino yang diperlukan untuk pertumbuhan mikrobiota. Mikrobiota proteolitik yang utama adalah spesies *Bacteroides* dan juga *Clostridium perfringens*, *propionibacteria*, streptokokus, dan stafilocokus. Hasil fermentasi asam amino akan menghasilkan sumber energi bagi mikrobiota menggantikan sumber energi dari karbohidrat yang jumlahnya sudah berkurang di kolon bagian distal bagi mikrobiota. Spesies *Bacteroides* merupakan mikrobiota yang memiliki aktivitas peptidase paling kuat dan paling banyak ditemukan pada lingkungan pH mendekati netral (pH 6.5). Selain asam lemak rantai pendek, hasil fermentasi protein juga akan menghasilkan amonia dan asam lemak rantai cabang. Sebagian besar amonia yang dihasilkan akan cepat diabsorpsi dan dimetabolisme menjadi urea di dalam hepar dan kemudian dikeluarkan melalui urin.¹⁷

Deaminasi asam amino aromatik oleh mikrobiota akan menghasilkan senyawa fenolik seperti *p-cresol*, fenilpropionat, fenilasetat, propionat indol dan asetat indol. Senyawa fenol akan cepat diabsorpsi di dalam kolon, dimetabolisme di dalam hepar dan kemudian dikeluarkan melalui urin dalam bentuk *p-cresol*.¹⁷

Proses dekarbosiilasi asam amino dan peptida oleh *Clostridia*, *Bifidobacteria* dan *Bacteroides* akan menghasilkan senyawa amin. Senyawa amin berperan sebagai prekursor senyawa nitrosamin yang merupakan senyawa karsinogen. Penelitian yang melihat efek pemberian protein terhadap komposisi mikrobiota masih jarang dan sebagian besar difokuskan pada deteksi *altered fermentation product*. Penelitian in vitro menunjukkan pertumbuhan *Clostridium perfringens* dan *Clostridium histolyticum* lebih baik pada kultur yang mengandung daging ayam dibandingkan dengan kultur yang mengandung daging sapi dan salmon. Sedangkan pertumbuhan *Bacteroides spp* lebih tinggi pada kultur yang mengandung daging sapi dibandingkan daging ikan.¹⁹

Penelitian mengenai efek lemak terhadap komposisi dan jumlah mikrobiota pada manusia masih sedikit. Hildebrandt dkk.²⁰ menemukan bahwa pemberian diet tinggi lemak menyebabkan tikus liar menjadi *obese*, sedangkan tikus *RELMβ knock out* tetap kurus. Peneliti juga menemukan bahwa akibat pemberian diet tinggi lemak, jumlah *Bacteroides* menurun dan jumlah *Firmicutes* dan *Proteobacteria* meningkat. Perubahan jumlah mikrobiota tersebut diduga karena efek pemberian diet tinggi lemak terhadap gen *RELMβ*. Peneliti menyatakan masih dibutuhkan penelitian lanjutan pada manusia.

2.1.2 Peran Status Gizi terhadap Mikrobiota Ibu Hamil

Status nutrisi dan asupan makanan yang adekuat selama masa pra konsepsi dan kehamilan merupakan faktor-faktor utama yang berperan terhadap *outcome* kelahiran yang sehat. Asupan makanan yang kurang selama kehamilan akan menyebabkan pertumbuhan janin yang buruk, kelahiran pre-term, kelangsungan hidup bayi rendah dan juga meningkatkan resiko penyakit kronik di usia lebih lanjut. Pertambahan berat badan yang berlebihan dan gagalanya mengurangi berat badan setelah persalinan merupakan prediktor kuat terhadap obesitas di kalangan wanita usia reproduksi. Demikian pula obesitas pada kehamilan juga akan mempengaruhi *outcome* kelahiran.^{6,21}

Status nutrisi berpengaruh terhadap komposisi mikrobiota saluran cerna. Penelitian Queipo-Ortuno dkk.²² terhadap tikus memperlihatkan bahwa status nutrisi dan aktivitas fisik mengubah komposisi mikrobiota saluran cerna. Pada

kelompok tikus yang dibatasi asupan makanannya terlihat peningkatan bermakna jumlah *Proteobacteria*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterococco*, *Prevotella* dan penurunan bermakna jumlah *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus*. Pada kelompok tikus yang asupan makanannya dibebaskan terlihat peningkatan jumlah *Lactobacillus* dan, *Bifidobacterium* yang signifikan.

Obesitas merupakan salah satu masalah kesehatan global yang serius di abad ke dua puluh satu ini. Obesitas pada kehamilan didefinisikan sebagai suatu kondisi di mana indeks massa tubuh (IMT) sama atau lebih dari 30 kg/m² yang diukur dengan membagi tinggi badan dengan berat badan pada saat konsultasi antenatal pertama. Organisasi kesehatan dunia WHO, membagi IMT untuk ibu hamil sebagai berikut: berat badan kurang (IMT <18,5 kg/m²), berat badan normal (IMT 18,5-24,99 kg/m²), berat badan lebih (IMT 25-29,99 kg/m²), Obes 1 (IMT 30-34,99 kg/m²), Obes 2 (IMT 35-39,9 kg/m²) dan Obes 3 (IMT ≥40.0 kg/m²).²³⁻²⁵ Menurut WHO, prevalensi obesitas pada kehamilan berkisar antara 1,8% sampai 25,3%. Obesitas sebelum dan selama kehamilan merupakan ancaman terhadap ibu dan menyebabkan komplikasi pada bayi.⁴

Pertambahan berat badan selama kehamilan diperlukan untuk menunjang pertumbuhan dan perkembangan janin. Berdasarkan pada IMT sebelum kehamilan, *Institute of Medicine* (IOM) 2009 merekomendasikan kenaikan berat badan untuk ibu dengan berat badan normal (IMT: 18,5-24,9 kg/m²) sebesar 11.4-15.9 kg selama kehamilan. Untuk ibu dengan berat badan lebih (IMT: 25,0-29,9 kg/m²) direkomendasikan antara 6,8-11,4 kg dan untuk ibu *obese* (IMT: ≥30 kg/m²) antara 5,0-9,0 kg.^{23,26}

Obesitas disebabkan oleh tidak imbangnya asupan dan keluaran energi. Selain faktor genetik, faktor lingkungan ditengarai juga ikut berperan. Kemampuan untuk mencirikan mikrobiota saluran cerna mengembangkan hipotesis bahwa mikrobiota dapat meregulasi terjadinya obesitas.²⁷ Komposisi mikrobiota pada orang obes berbeda dengan orang berberat badan normal. Pada orang obes ditemukan peningkatan rasio *Firmicutes* terhadap *Bacteroides*. *Firmicutes* dan *Bacteroides* mampu memetabolisme polisakarida menjadi monosakarida dan asam lemak rantai pendek. Asam lemak rantai pendek ini kemudian dapat mengaktifkan

reseptor-reseptor di dalam epitel saluran cerna dan menyebabkan penekanan motilitas saluran cerna dan melambatnya waktu transit usus. Kondisi ini akan meningkatkan absorpsi dan penyimpanan energi di dalam jaringan lemak dan pada akhirnya menyebabkan peningkatan berat badan.²⁸

Collado dkk.¹² menemukan adanya hubungan antara komposisi mikrobiota dengan berat badan ibu hamil. Penelitian dilakukan pada 52 orang ibu hamil, yang terdiri dari 26 orang dengan indeks massa tubuh (IMT) sebelum hamil kurang dari 25 kg/m², dan 18 orang dengan IMT > 30 kg/m² sebelum hamil. Hasil penelitian mendapatkan bahwa jumlah *Bacteroides* dan *Staphylococcus* lebih tinggi secara signifikan pada ibu hamil dengan obesitas dibandingkan dengan ibu hamil dengan berat badan normal.

2.1.3 Peran Usia Kehamilan terhadap Mikrobiota Ibu Hamil

Selain faktor diet, genomik, gaya hidup, dan obat, komposisi mikrobiota saluran cerna dipengaruhi juga oleh faktor usia. Saat lahir, mikrobiota yang pertama kali mengkolonisasi saluran cerna adalah mikrobiota anaerob fakultatif seperti *enterobacteria*, *coliform*, laktobasilus, dan streptokokus. Kolonisasi mikrobiota pada saluran cerna bayi juga dipengaruhi oleh metode persalinan ibu. Bayi yang dilahirkan per vaginam terpapar dengan mikrobiota dari fekal dan vagina ibu, sedangkan bayi yang dilahirkan melalui *sectio caesarea* mendapatkan mikrobiotanya dari kulit ibu, petugas kesehatan dan lingkungan rumah sakit.²⁹ Pada hari kedua setelah lahir, jenis mikrobiota yang mengkolonisasi saluran cerna adalah bifidobakteri, *bacteroides*, klostridia dan *eubacteria*.³⁰ Kondisi tersebut akan terus berubah hingga anak berusia dua sampai tiga tahun di mana komposisi mikrobiota saluran cerna anak mulai menyerupai komposisi mikrobiota orang dewasa.³¹ Komposisi mikrobiota saluran cerna pada manusia dewasa sehat didominasi oleh filum *Bacteroides*, *Firmicutes* dan *Actinobacteria*.³² Berkurangnya ketajaman penciuman dan pengecapan, gangguan mengunyah dan menelan, hipoklorhidria akan menyebabkan berkurangnya asupan makanan pada manusia usia lanjut (manula). Kondisi tersebut akan mempengaruhi komposisi mikrobiota di saluran cerna manula. Pada manula ditemukan peningkatan jumlah klostridia, laktobasili, streptokoki dan enterobakter, sedangkan jumlah bifidobakteria akan turun.³³

Collado dkk.¹² menemukan adanya hubungan antara komposisi mikrobiota dengan usia kehamilan. Penelitian dilakukan pada 52 subjek, yang terdiri dari 26 subjek dengan indeks massa tubuh (IMT) sebelum hamil kurang dari 25 kg/m², dan 18 subjek dengan IMT > 30 kg/m² sebelum hamil. Pengumpulan feses untuk analisis komposisi mikrobiota saluran cerna dilakukan dua kali, yang pertama pada usia kehamilan 10-15 minggu dan yang kedua pada usia kehamilan 30-35 minggu. Hasil penelitian mendapatkan bahwa jumlah *Clostridium* lebih meningkat pada kelompok ibu dengan OBES dibandingkan ibu berat badan normal dari kehamilan trimester satu hingga trimester tiga, sedangkan jumlah *Bifidobacterium* lebih tinggi pada kelompok ibu dengan berat badan normal dibandingkan kelompok ibu OBES. Koren dkk.¹⁰ juga menemukan peningkatan jumlah mikrobiota dari trimester satu hingga trimester tiga pada 91 subjek ibu hamil di Finlandia. Dilakukan pengumpulan sampel feses dan informasi diet, di mana dari pemeriksaan sampel feses ditemukan peningkatan jumlah *Proteobacteria* dan *Actinobacteria* yang signifikan. Dinyatakan bahwa selama kehamilan terjadi reaksi inflamasi derajat rendah pada permukaan epitel saluran cerna, dan inflamasi ini kemungkinan mendorong terjadinya *dysbiosis* mikrobiota. Masih dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk mengklarifikasi mekanisme penyebab *dysbiosis* tersebut.

2.1.4 Faktor Lain yang Memengaruhi Mikrobiota Ibu Hamil

Komposisi mikrobiota saluran cerna pada orang dewasa sehat berada dalam kondisi relatif stabil yang didominasi oleh *Bacteroidetes*, *Firmicutes* dan *Actinobacteria*. Akan tetapi, keseimbangan ini dapat terganggu akibat faktor eksternal seperti pemberian antibiotik. Penelitian belakangan ini menunjukkan pemberian antibiotik spectrum luas dapat mengurangi jumlah *Bacteroidetes* dan secara bermakna meningkatkan jumlah *Firmicutes*.^{34,35} Perubahan yang terjadi biasanya bersifat temporer, namun ada juga yang bersifat menetap.³⁶ Vidal dkk.³⁷ menemukan bahwa pemberian antibiotik in utero pada subjek ibu hamil berhubungan dengan berat badan lahir rendah dibandingkan dengan ibu hamil yang tidak diberikan antibiotik. Pada penelitian kohort yang melibatkan 436 subjek ibu dan anak hingga usia 7 tahun, Mueller dkk.³⁸ menemukan bahwa pemberian antibiotik pada subjek ibu

pada kehamilan trimester kedua dan ketiga meningkatkan risiko obesitas pada anak sebesar 84% dibandingkan dengan subjek ibu yang tidak diberikan antibiotik.

2.2 Faktor-faktor yang Memengaruhi Berat Badan Lahir Bayi

Berat badan lahir bayi merupakan suatu indikator penting untuk bayi dan neonatus. Berat badan lahir adalah berat badan yang diukur pertama kali dalam waktu 1 jam setelah bayi lahir sebelum terjadi kehilangan berat badan pasca kelahiran yang nyata.³⁹ Berat badan yang tidak berada dalam rentang normal berhubungan kuat dengan *outcome* kesehatan yang buruk di masa bayi, anak-anak dan juga di masa dewasa. Berat badan lahir dapat lebih rendah, normal maupun lebih besar. Berat lahir normal adalah berat badan bayi yang berkisar antara 2500-4000 gram.³⁹ Yang tergolong ke dalam BBLR adalah bayi kecil masa kehamilan (KMK), dan bayi prematur. Di seluruh dunia, prevalensi bayi yang dilahirkan dengan BBLR adalah sebesar 15,5% dan hampir 96% ditemukan di negara-negara berkembang.^{21,40} Bayi yang dilahirkan dengan BBLR juga berisiko lebih tinggi terhadap mortalitas di periode neonatus.⁴¹ Berat badan lahir lebih disebut juga neonatus cukup bulan dengan berat masa kehamilan (NCB-BMK), di mana berat badan bayi diatas persentil 90.⁴² Bayi dengan BMK berisiko terhadap diabetes melitus dan berbagai penyakit degeneratif lainnya di usia lanjut.

2.2.1 Peran Asupan Zat Gizi Ibu Hamil terhadap Berat Badan Lahir Bayi

Asupan zat gizi merupakan faktor penting terhadap *outcome* kehamilan.^{6,21,43} Asupan zat gizi yang tidak disertai dengan energi dan mikronutrien yang adekuat berperan terhadap BBLR. Energi merupakan faktor determinan utama terhadap pertambahan berat badan ibu selama kehamilan. Pada kehamilan dibutuhkan energi lebih untuk memenuhi kebutuhan metabolisme ibu, pertumbuhan janin dan plasenta. *Food and Agriculture Organization* (FAO)/WHO/Perserikatan Bangsa Bangsa (PBB) merekomendasikan tambahan asupan energi selama kehamilan sebagai berikut, 85 kalori/hari pada trimester pertama, 285 kalori/hari pada trimester kedua, dan 475 kalori/hari di trimester ketiga.^{44,45} Kurang lebih 50-60% dari kebutuhan total kalori berasal dari karbohidrat. Ibu hamil sekurang-kurangnya harus mengonsumsi 175 gram karbohidrat per hari nya untuk memenuhi kebutuhan otak

janin. Sayuran, buah-buahan, dan *whole-grain* merupakan sumber karbohidrat yang baik karena mengandung senyawa fitokimia dan serat untuk mencegah konstipasi.⁴⁶ Selanjutnya zat gizi yang dibutuhkan adalah protein, tambahan protein sebesar 25 gram per hari di atas kebutuhan sebelum hamil dibutuhkan untuk menjaga kehamilan dan pertumbuhan janin serta plasenta.⁴⁵ Cuco dkk.⁴⁷ menemukan bahwa tambahan asupan protein sebelum konsepsi dan selama kehamilan pada 77 subjek wanita yang berencana hamil berhubungan dengan peningkatan berat badan lahir bayi. Selain karbohidrat dan protein, diperkirakan 33% dari total energi harian ibu hamil berasal dari lemak. Di samping sebagai sumber energi bagi pertumbuhan dan perkembangan janin, lemak juga berfungsi sebagai sumber vitamin larut lemak. Asupan lemak juga menyediakan asam lemak esensial di mana direkomendasikan bahwa ibu hamil mengonsumsi 13 gram/hari asam lemak linoleat dan 1,4 gram/hari asam lemak alfa-linolenat.⁴⁶ Olsen dkk.⁴⁸ menemukan bahwa pemberian makanan laut yang mengandung 0,15 gram asam lemak omega-3 menurunkan risiko persalinan prematur dan BBLR pada subjek ibu hamil yang mengonsumsi makanan laut sekali seminggu dibandingkan dengan subjek yang tidak mengonsumsi makanan laut sama sekali.

Defisiensi besi merupakan defisiensi yang paling sering ditemukan pada ibu hamil baik di negara maju maupun negara berkembang, yang berkaitan dengan BBLR dan persalinan prematur. Mekanisme bagaimana status besi yang rendah dapat mempengaruhi berat badan dan persalinan prematur masih belum dipahami dengan baik. Kebutuhan akan besi meningkat selama kehamilan, mulai dari 0,8 mg/hari pada trimester pertama hingga 7,5 mg/hari pada trimester ketiga.⁷ Cogswell dkk.⁴⁹ menemukan bahwa pemberian suplementasi besi pada 275 subjek ibu hamil sebesar 30 mg sekali sebulan dalam bentuk kapsul sulfas ferosus mulai dari kehamilan usia 20 minggu hingga 28 minggu terbukti secara bermakna meningkatkan rerata berat lahir bayi dan menurunkan insiden kelahiran bayi BBLR prematur dibandingkan dengan kelompok plasebo.

Asam folat dipertimbangkan sebagai zat gizi esensial karena tidak dapat disintesis di dalam tubuh manusia. Asam folat sangat diperlukan pada fase perkembangan janin karena merupakan kofaktor dari berbagai reaksi seluler yang penting. Kebutuhan asam folat meningkat lima sampai sepuluh kali lipat pada hamil.

Rekomendasi kecukupan asam folat untuk ibu hamil adalah 600 µg/hari untuk pertumbuhan janin dan plasenta.⁵⁰ Beberapa penelitian berskala besar menunjukkan bahwa asupan rendah asam folat pada masa perikonsepsi hingga pertengahan kehamilan berhubungan dengan peningkatan dua sampai empat kali risiko BBLR dan kelahiran prematur.⁴⁴ Meta analisis oleh Fekete dkk.⁵¹ terhadap tujuh penelitian yang melibatkan 707 subjek ibu hamil menyimpulkan bahwa suplementasi asam folat pada kelompok intervensi secara signifikan meningkatkan berat badan bayi dibandingkan kelompok plasebo.

2.2.2 Peran Status Gizi Ibu Hamil terhadap Berat Badan Lahir Bayi

Asupan zat gizi sangat berpengaruh terhadap status gizi ibu hamil. Status gizi yang baik sebelum dan selama kehamilan merupakan faktor utama untuk *outcome* kelahiran yang sehat. Ibu hamil dengan status nutrisi kurang dan buruk berisiko tinggi terhadap pertumbuhan janin yang buruk, persalinan prematur, angka morbiditas dan mortalitas bayi yang tinggi, dan meningkatnya risiko menderita penyakit kronik di usia lanjut.²¹ Sebaliknya, Ibu hamil dengan obesitas (IMT ≥ 30 kg/m²) juga berisiko lebih tinggi mengalami komplikasi selama kehamilan seperti malformasi kongenital maupun pre-eklampsia. Di samping itu ibu hamil dengan obes berisiko melahirkan bayi dengan berat badan lebih dan bayi tersebut berisiko menjadi obes dan menderita diabetes melitus tipe 2 di masa anak dan dewasa.^{6,41,52} Cnattingius dkk.⁵³ menemukan bahwa Odds Ratio (OR) kematian janin pada ibu hamil dengan kelebihan berat badan (IMT 25,0-29,9 kg/m²) dan obes (IMT ≥ 30 kg/m²) adalah 1,7 kali lebih tinggi dibandingkan dengan ibu hamil dengan berat badan normal (IMT 20,0-24,9 kg/m²). WHO memperkirakan ada sekitar 35% wanita dewasa di seluruh dunia yang mengalami kelebihan berat badan (IMT ≥ 25 kg/m²), sepertiga di antaranya adalah obes.

Institute of Medicine merekomendasikan kenaikan berat badan total selama kehamilan pada ibu dengan berat badan normal (IMT 18,5-24,9 kg/m²) adalah 11,5-16 kg. Sedangkan rerata kenaikan berat badan selama kehamilan pada ibu dengan berat badan normal adalah 0,42 kg/minggu pada trimester kedua dan 1 kg/minggu pada trimester ketiga.^{23,54}

Tabel 2.1 Rekomendasi Kenaikan Total dan Rerata Kenaikan Berat Badan selama Kehamilan berdasarkan IMT sebelum hamil dari *Institute of Medicine (IOM)*

IMT Sebelum Hamil (kg/m ²)	Total Kenaikan Berat Badan (kg)	Rerata Kenaikan Berat Badan (BB) Trimester 2 dan 3 (kg/minggu)
BB Kurang (<18,5)	12,5-18	0,51
BB Normal (18,5-24,9)	11,5-16	0,42
BB Lebih (25,0-29,9)	7-11,5	0,28
Obes (≥30)	5-9	0,22

Sumber: telah diolah kembali dari sumber referensi no. 43

2.2.3 Peran Ibu Hamil yang Merokok terhadap Berat Badan Lahir Bayi

Salah satu faktor penting yang berperan terhadap BBLR dan persalinan prematur adalah rokok. Asap rokok mengandung lebih dari 1000 senyawa termasuk karbon monoksida, hidrogen sianida, karsinogen dan *trace elements* seperti tembaga, nikel dan kadmium. Dua senyawa yang diduga menyebabkan efek yang merugikan terhadap janin adalah karbon monoksida dan nikotin. Karbon monoksida memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap hemoglobin dibandingkan oksigen, sehingga dapat dengan cepat membentuk senyawa karboksihemoglobin. Senyawa karboksihemoglobin tidak dapat membawa oksigen. Kondisi ini akan menyebabkan berkurangnya pasokan oksigen ke janin dan menyebabkan hipoksia pada janin. Nikotin merupakan unsur aktif di dalam tembakau yang berperan terhadap gangguan pada kerja kardiovaskular dan saraf pusat. Nikotin mengaktifkan sistem adrenergik melalui pelepasan katekolamin dari medula adrenal, ganglia otonomik dan *neuromuscular junctions*. Nikotin dapat melewati plasenta dan kadarnya dalam cairan amnion dapat melebihi kadar nikotin pada ibu.^{55,56}

Berstein dkk.⁵⁷ menemukan bahwa ada hubungan antara faktor ibu merokok dengan berkurangnya berat badan lahir bayi. Seratus enam puluh subjek ibu hamil trimester tiga direkrut dan dicatat frekuensi merokoknya sebelum kehamilan, ditemukan bahwa konsumsi rokok pada trimester ketiga merupakan prediktor

paling kuat terhadap pengurangan berat badan lahir, dan setiap penambahan rokok yang dihisap per harinya berhubungan dengan pengurangan berat badan bayi sebesar 27 gram.

2.2.4 Faktor Lain yang Memengaruhi Berat Badan Lahir Bayi

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit yang paling banyak menyebabkan komplikasi selama kehamilan. Diperkirakan 0,2-0,3% dari seluruh kehamilan mengalami komplikasi akibat DM sebelum kehamilan (pra gestasional), dan 1-5% disebabkan oleh DM selama kehamilan (DM gestasional). Sekalipun sudah banyak kemajuan dalam perawatan ibu hamil dengan DM, risiko persalinan bayi prematur masih tinggi. Suatu studi menyatakan bahwa 36% bayi prematur dilahirkan oleh ibu dengan DM gestasional dan pra gestasional dibandingkan 9,7% bayi prematur yang dilahirkan oleh ibu hamil yang tidak menderita DM.⁵⁸ Ibu hamil dengan DM gestasional juga berisiko melahirkan bayi dengan makrosomia (berat badan lahir $\geq$ 4000 gram).⁵⁹ Selama kehamilan plasenta memproduksi hormon-hormon yaitu laktogen (*human placental lactogen*), prolaktin dan estradiol yang efek kerjanya berlawanan dengan insulin sehingga terjadi peningkatan kadar gula darah. Peningkatan kadar gula darah dalam jumlah yang moderat setelah makan merupakan kondisi yang normal pada kehamilan. Pada diabetes gestasional, laktogen dari plasenta, prolaktin dan estradiol akan meningkatkan kadar gula darah, sampai pada kadar yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bayi dalam rahim, yang dapat menyebabkan bayi makrosomia.

2.3 Peran Mikrobiota Ibu Hamil terhadap Berat Badan Lahir Bayi

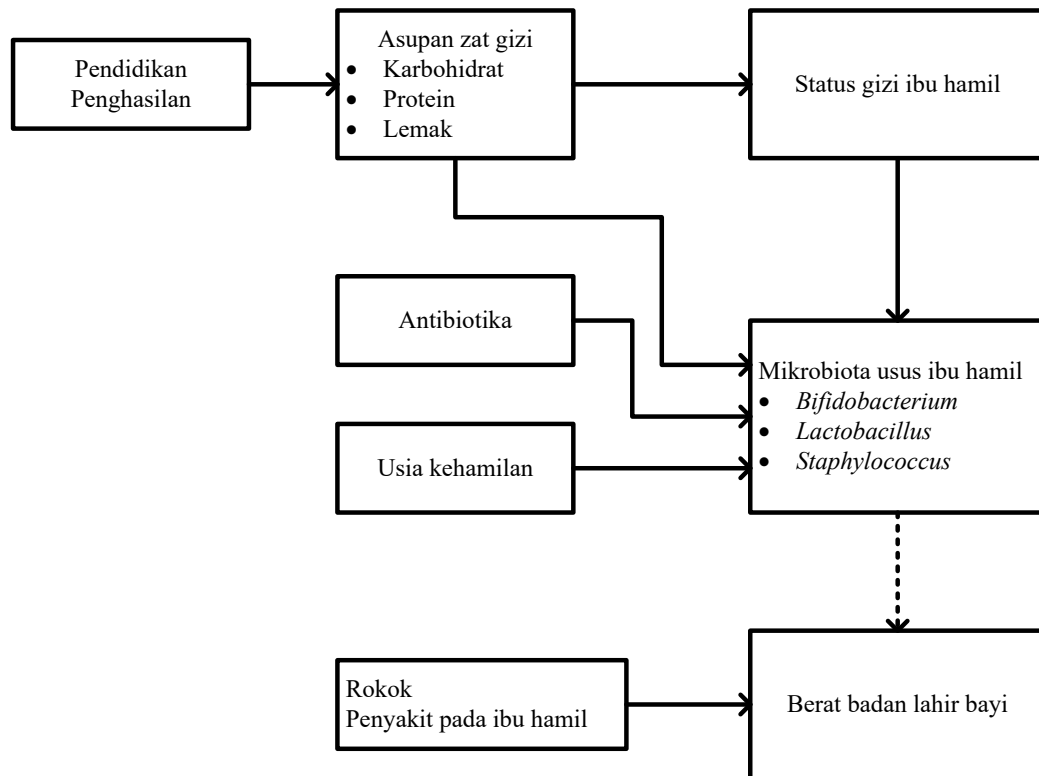
Bifidobakteria merupakan mikrobiota penghuni saluran cerna yang bersifat gram positif, tidak bergerak, tidak bersporulasi, tidak menghasilkan gas, dan sakarolitik. Bifidobakteria termasuk ke dalam famili *Bifidobacteriaceae* dan filum *Actinobacteria*. Dalam dua hingga tiga dekade terakhir, Bifidobakteria banyak sekali diteliti karena mikrobiota ini ditemukan dalam jumlah banyak di dalam saluran cerna manusia⁶⁰ dan pada feses bayi yang diberikan ASI.⁶¹ Manfaat kesehatan yang berkaitan dengan Bifidobakteria antara lain modulasi sistem imun, produksi vitamin, mengurangi gejala-gejala dermatitis atopik, dan mengurangi diare, infeksi rotavirus dan intoleransi laktosa pada anak-anak dan dewasa.⁶¹ Laktobasilus merupakan mikrobiota gram positif, anaerobik, tidak membentuk spora, berbentuk *coccobacilli*, tidak berflagela⁶² dan berasal dari famili *Lactobacillaceae*. Mikrobiota ini banyak digunakan untuk fermentasi makanan, probiotik, mengobati diare pada bayi maupun dewasa, vaginitis kandidosis, dan diare yang disebabkan oleh antibiotik. Laktobasilus termasuk kelompok bakteri asam laktat karena dapat mengubah laktosa dan karbohidrat lainnya menjadi asam laktat. Pada manusia, laktobasilus ditemukan di vagina dan saluran cerna.^{63,64} *Staphylococcus* merupakan bakteri anaerob fakultatif, gram positif, tidak bergerak, dan tidak membentuk spora. Didapatkan tiga puluh dua spesies *Staphylococcus* yang mengkolonisasi tubuh manusia. Obesitas merupakan faktor risiko terjadinya infeksi oleh *staphylococcus*.

Sejumlah penelitian sudah melihat bagaimana peran mikrobiota ibu terhadap kolonisasi awal mikrobiota pada bayi. Namun, bagaimana peran dari mikrobiota pada ibu hamil terhadap berat badan lahir bayi masih belum banyak diketahui.

Dalam satu penelitian yang dilakukan Santacruz dkk.¹¹ ditemukan bahwa ada hubungan antara mikrobiota pada ibu hamil dengan berat badan lahir bayi. Penelitian tersebut melibatkan 50 subjek ibu hamil, yang terdiri dari 16 subjek ibu hamil dengan IMT $>25 \text{ kg/m}^2$ dan 34 subjek ibu hamil dengan IMT $<25 \text{ kg/m}^2$. Masing-masing kelompok subjek kemudian dikelompokkan menjadi dua kelompok yang didasarkan pada penambahan berat badan selama trimester kedua dan ketiga yaitu kelompok dengan penambahan berat badan normal (11,5-16,0 kg) dan

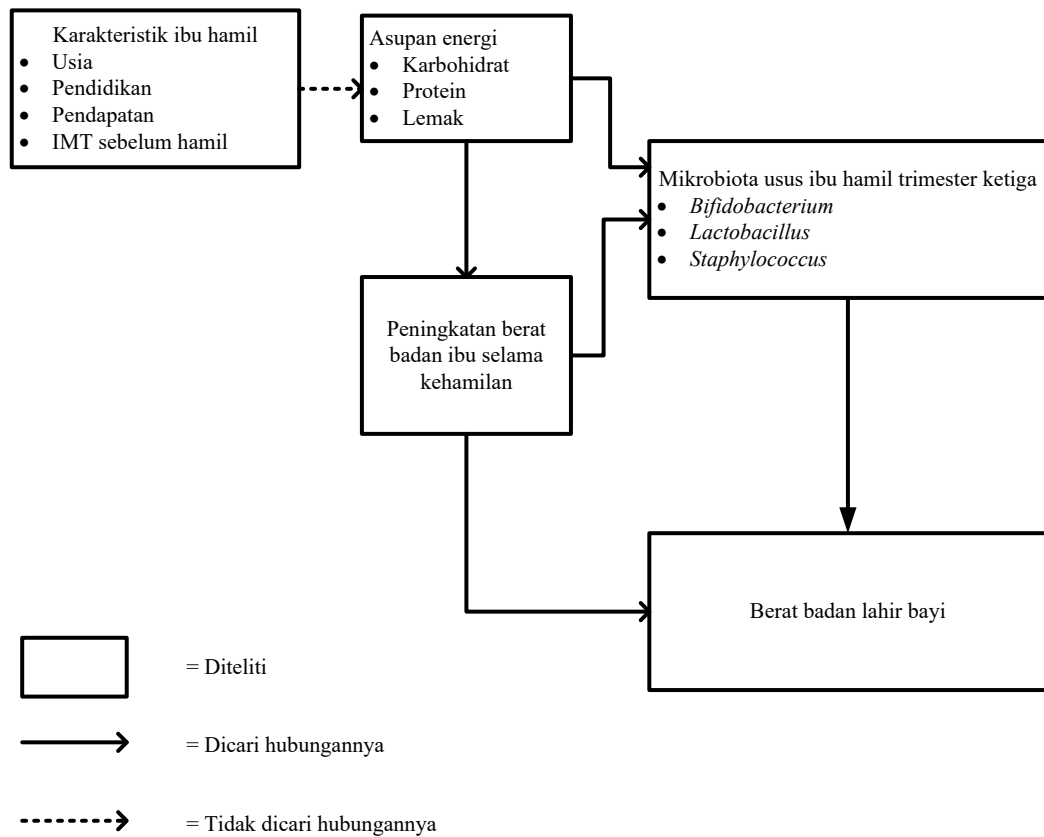
kelompok dengan penambahan berat badan berlebihan (7,0-11,5 kg). Subjek direkrut pada usia kehamilan 20 minggu dan kemudian dilakukan pemeriksaan pada usia kehamilan 24 minggu (trimester kedua) dan pada 34 minggu (trimester ketiga). Pada kehamilan 24 minggu dilakukan pemeriksaan feses dan darah untuk analisis mikrobiologi dan biokimia. Didapatkan adanya hubungan bermakna positif antara jumlah *E.coli* ($r\ 0,331; p=0,039$) dan *C. coccoides* ($r\ 0,323; p=0,045$) dengan berat badan lahir bayi pada seluruh populasi subjek. Pada kelompok subjek ibu hamil dengan berat badan lebih, ditemukan hubungan bermakna positif antara jumlah *E.coli* ($r\ 0,673; p=0,035$) dengan berat badan lahir bayi, sedangkan pada kelompok subjek dengan penambahan berat badan kehamilan yang berlebihan ditemukan hubungan bermakna yang negatif antara jumlah *Lactobacillus* dengan berat badan lahir bayi ($r\ -0,917, p=0,001$). Dalam hal ini masih dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk melihat bagaimana modulasi dari mikrobiota saluran cerna ibu hamil yang berdampak terhadap kesehatan bayi yang dilahirkan.

2.4 Kerangka Teori



Gambar 2.1 Kerangka Teori Korelasi Antara Jumlah Mikrobiota Usus dan Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi

3.5 Kerangka Konsep



Gambar 2.2 Kerangka Teori Korelasi Antara Jumlah Mikrobiota Usus dan Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah studi potong lintang yang bertujuan untuk melihat hubungan antara jumlah mikrobiota usus dan asupan zat gizi ibu hamil trimester ketiga dengan berat badan lahir bayi.

3.2 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian akan dilakukan di seluruh puskesmas kecamatan di Jakarta Timur yaitu puskesmas kecamatan Pulogadung, Kramat Jati, Matraman, Jatinegara, Ciracas, Pasar Rebo, Cakung, Makasar, Duren Sawit dan Cipayung. Waktu penelitian dimulai dari bulan Februari 2015 hingga April 2015.

3.3 Populasi dan sampel

3.3.1 Populasi target

Populasi target adalah semua ibu hamil trimester ketiga yang berusia 19-44 tahun.

3.3.2. Populasi terjangkau

Populasi terjangkau adalah semua ibu hamil trimester ketiga berusia 19-44 tahun, yang melakukan pemeriksaan *antenatal care* (ANC) di seluruh puskesmas kecamatan Jakarta Timur

3.3.3. Subjek Penelitian

Subjek penelitian adalah bagian dari populasi terjangkau yang memenuhi kriteria penelitian dan dipilih dengan cara *consecutive sampling*, serta memberikan pernyataan persetujuan mengikuti penelitian secara tertulis (*informed consent*)

3.4 Kriteria seleksi

3.4.1 Kriteria inklusi

- Ibu hamil trimester ketiga dengan usia kehamilan 32 minggu sampai 37 minggu berdasarkan rekam medis.
- Usia ibu 19-44 tahun
- Melakukan pemeriksaan ANC dan melahirkan di puskesmas kecamatan

- Bersedia mengikuti penelitian dengan menanda-tangani formulir persetujuan (informed consent)

3.4.2 Kriteria eksklusi

- Ibu hamil dengan HIV/AIDS
- Ibu hamil dengan penyakit menular seksual, diabetes melitus, diare kronis
- Ibu hamil yang perokok aktif sebelum hamil dan terpapar selama kehamilan
- Ibu hamil yang mengonsumsi antibiotik dalam 2 minggu terakhir
- Bayi kembar
- Bayi menderita anomali kongenital

3.4.3 Besar Sampel

Besar sampel diperkirakan dengan menggunakan rumus untuk studi korelasi sebagai berikut:

$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)}{0,5 \ln [(1+r)/(1-r)]} \right]^2 + 3$$

n = besar sampel minimal

$Z\alpha$ = batas kemaknaan statistik = 1,96 untuk $\alpha = 0,05$

$Z\beta$ = power penelitian = 0,842 untuk $\beta = 0,20$

R = perkiraan koefisien korelasi

ln = log natural

Variabel	R	n	Referensi
Mikrobiota	0,4	47	12
Asupan nutrisi	0.4	47	6

Jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah 47 orang dan dengan memperhitungkan kemungkinan *drop out* sebesar 10% maka jumlah sampel menjadi 52 orang.

3.4.4 Cara Pengambilan Sampel

Sampel penelitian dapat mulai diambil setelah mendapat persetujuan dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *consecutive sampling* terhadap ibu hamil trimester ketiga yang melakukan ANC dan persalinan di 10 puskesmas kecamatan Jakarta Timur yang menjadi tempat penelitian sesuai dengan kriteria inklusi. Pengambilan sampel dilakukan secara bertahap. Tahap pertama diambil sampel di 5 puskesmas yang dipilih berdasarkan prakiraan jumlah ANC terbanyak, dan tahap kedua diambil sampel di 5 puskesmas selanjutnya. Jumlah sampel yang diambil pada masing-masing puskesmas didasarkan pada proporsi jumlah ibu hamil trimester ketiga yang melakukan ANC di puskesmas-puskesmas tersebut.

3.5 Instrumen Pengumpulan Data

3.5.1 Lampiran Formulir

- Formulir A : Lembar seleksi subjek penelitian
- Formulir B : Lembar informasi penelitian
- Formulir C : Lembar persetujuan menjadi subjek penelitian
- Formulir D : Formulir karakteristik subjek penelitian
- Formulir E : Lembar pemeriksaan antropometri
- Formulir F : Formulir *SQ-FFQ*
- Formulir G : Lembar hasil pemeriksaan *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* dan *Staphylococcus* usus
- Formulir H : Lembar hasil penimbangan berat badan lahir bayi

3.5.2 Peralatan dan Spesimen

- Timbangan elektronik berat badan merek SECA untuk ibu hamil
- Timbangan elektronik berat badan merek Serenity untuk bayi
- *Shorrboard*
- Sarung tangan
- *Container* steril untuk menampung feses
- Plastik
- *Ice pack*

- *Cooler box* untuk menyimpan specimen feses
- *Freezer* untuk menyimpan specimen feses (-20°C)
- Kit qRT-PCR
- Spesimen feses dengan berat minimal 5 gram
- Buku *Total Diet Study* Kemenkes RI

3.6 Cara Kerja

3.6.1 Cara Memperoleh Subjek Penelitian

Pengumpulan subjek penelitian dapat dimulai setelah mendapat persetujuan penelitian dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Pengumpulan sampel dilakukan dengan metode *consecutive sampling*, subjek yang memenuhi kriteria inklusi (Formulir A) diberi lembar informasi penelitian (Formulir B) dan dijelaskan mengenai tujuan, manfaat dan pemeriksaan-pemeriksaan yang akan dilakukan jika subjek ikut dalam penelitian. Bila subjek setuju untuk ikut dalam penelitian, maka subjek diberikan formulir persetujuan ikut penelitian (Formulir C) dan menanda tangani formulir persetujuan tersebut.

3.6.2 Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan metode wawancara, pengukuran antropometri dan pemeriksaan laboratorium.

3.6.2.1 Wawancara

Wawancara dilakukan terhadap subjek untuk mendapatkan data karakteristik subjek (Formulir D), asupan makanan dengan melakukan wawancara menggunakan *semi quantitative food frequency questinaer (SQ-FFQ)* (Formulir F1).

Semi quantitative Food Frequency Questionaere

1. Subjek diminta untuk mengingat makanan yang dikonsumsi selama 1 bulan terakhir, cara memasak makanan tersebut, dan perkiraan jumlah makanan yang dikonsumsi dengan menggunakan urutan rumat tangga (URT). *SQ-FFQ* dilakukan sebanyak 1 kali.

2. Data asupan zat gizi dan energi dalam URT dikonversikan menjadi satuan gram dengan menggunakan daftar analisis bahan makanan dan daftar bahan makanan penukar.
3. Selanjutnya dilakukan analisis data asupan zat gizi dan energi dengan menggunakan perangkat lunak *Nutrisurvey* 2007.
4. Hasil analisis dicatat dalam Formulir F.

3.6.2.2 Pengukuran Antropometri

Pengukuran antropometri dilakukan untuk menghitung berat badan dan tinggi badan ibu hamil dan berat badan lahir bayi. Data antropometri dapat berupa data sekunder yang berasal dari rekam medis. Data dari rekam medis digunakan sebagai data IMT ibu sebelum hamil. Hasil pengukuran berat badan dan tinggi badan ibu hamil digunakan untuk menghitung IMT ibu hamil dan penambahan berat badan selama kehamilan. Seluruh hasil pengukuran dicatat dalam formulir E.

Pengukuran Berat Badan Ibu Hamil

1. Timbangan elektronik diletakkan di atas permukaan yang rata dan keras. Kepastian alat sudah diatas permukaan yang rata dapat dilihat pada indikator bola pada timbangan yang tepat berada di tengah.
2. Subjek diminta naik ke atas timbangan, dan ditimbang dalam keadaan kandung kemih kosong, belum makan, tidak menggunakan pakaian tebal, tidak menggunakan alas kaki dan tidak membawa benda-benda lain dalam kantong baju. Semua perhiasaan termasuk kacamata yang ada pada badan subjek dilepaskan sebelum subjek ditimbang. Subjek berdiri tegak, keadaan rileks, kedua lengan bebas berada di samping tubuh, pandangan mata lurus ke depan, kedua kaki subjek saling berdekatan dan tidak keluar dari timbangan.
3. Penimbangan subjek dilakukan sebanyak 2 kali dengan hasil penimbangan ulang tidak berbeda dari 0,1 kg dan hasil akhir diperoleh dari rata-rata penimbangan. Jika terjadi perbedaan penimbangan lebih dari 0,1 kg, maka subjek ditimbang ulang dan hasil yang dicatat adalah rata-rata dua hasil penimbangan yang berdekatan. Hasil dicatat pada formulir E.

Pengukuran Tinggi Badan Ibu Hamil

1. *Shorrboard* dipasang di atas permukaan lantai yang rata dan keras dan menempel pada permukaan dinding yang rata. Angka nol cm berada tepat di *platform* tempat subjek berdiri.
2. Subjek yang akan diukur berdiri tegak, di atas *platform*, keadaan rileks, kedua lengan bebas berada di samping tubuh, pandangan mata lurus ke depan dengan acuan *meatus acusticus externus* dan tulang pipi berada satu garis lurus, kedua kaki subjek saling berdekatan, tidak menggunakan alas kaki. Kepala bagian belakang, tulang belikat, pinggul, otot betis, dan tumit menempel pada *shorrboard*.
3. Pengukur menurunkan bagian *shorrboard* yang dapat bergerak hingga tepat menyentuh bagian atas kepala.
4. Pengukuran dilakukan sebanyak dua kali, dan diambil nilai rata-rata untuk dicatatkan pada formulir E.

Pengukuran Berat Badan Bayi

1. Timbangan elektronik diletakkan pada permukaan yang rata dan keras. Bayi ditimbang maksimal 1 jam setelah dilahirkan.
2. Bayi ditimbang tanpa menggunakan pakaian dan dilakukan sebanyak dua kali. Pengukuran berat badan diambil hingga 10 gram terdekat.
3. Hasil rata-rata penimbangan dicatat dalam formulir E.

3.6.2.3 Pemeriksaan Laboratorium

Pemeriksaan laboratorium berupa pemeriksaan sampel feses untuk menilai jumlah *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* dan *Staphylococcus* usus di dalam feses. Pemeriksaan mencakup 3 bagian yaitu pemeriksaan sampel feses, pemeriksaan bakteri standar (ATCC), dan pengukuran rPCR

Pemeriksaan Sampel Feses

1. Pengambilan sampel feses

Feses yang sudah didapatkan segera setelah defekasi, disimpan di dalam *cooler box*, dan kemudian dibawa ke laboratorium untuk disimpan dalam freezer bersuhu -80°C . Pemeriksaan jumlah *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* dan

Staphylococcus dilakukan serentak setelah semua sampel feses dikumpulkan.
Metode pemeriksaan menggunakan metode *quantitative real-time* (rPCR.)

2. Penimbangan Sampel Feses

3. Pemeriksaan Ekstraksi DNA mikrobiota

4. Pemeriksaan Konsentrasi DNA Mikrobiota

Pemeriksaan Bakteri Standar (ATCC)

1. Bakteri standar (ATCC) dikultur

2. Penghitungan jumlah bakteri standar hasil kultur (3 Counting chamber)

3. Pembuatan Alequot (Mixing)

4. Proses Ekstraksi Bakteri Standar

5. Proses Pembuatan Kurva Standar dengan alat rPCR

Proses Pemeriksaan Sampel Feses dengan PCR

Hasil yang didapatkan dicatat pada formulir G.

3.7 Identifikasi Variabel

Variabel bebas: Asupan zat gizi ibu dan Jumlah *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* dan *Staphylococcus* ibu hamil

Variabel terikat: Berat badan lahir bayi

Tabel 3.1 Matriks variabel indikator

No	Variabel	Metode	Skala	Referensi
1.	Karakteristik subjek:			
	Usia	Wawancara	Rasio	No. 57
	Pendidikan	Wawancara	Ordinal	No. 58
	Pendapatan	Wawancara	Ordinal	No. 59
	IMT trimester I	Antropometri	Rasio, Ordinal	No. 20
	Peningkatan berat badan selama kehamilan	Antropometri	Ordinal	No. 43
2.	Asupan energi	SQ-FFQ	Rasio, Ordinal	No. 60
3	Asupan makronutrien			
	Karbohidrat	SQ-FFQ	Rasio, Ordinal	No. 60
	Protein	SQ-FFQ	Rasio, Ordinal	No. 60
	Lemak	SQ-FFQ	Rasio, Ordinal	No. 60
4.	Jumlah <i>Bifidobacterium</i> <i>Lactobacillus</i> dan <i>Staphylococcus</i>	PCR	Rasio	No. 9
5.	Berat badan lahir bayi	Antropometri	Rasio, Ordinal	No. 37

3.8 Batasan Operasional

1. Usia

Definisi : Usia dihitung berdasarkan tanggal lahir yang tertera di Kartu Tanda Penduduk (KTP) dan ditentukan berdasarkan ulang tahun terakhir.

Alat ukur : KTP

Cara ukur : Wawancara

Hasil Ukur : Usia dalam satuan tahun.

2. Pendidikan

Definisi : Tingkat pendidikan formal terakhir yang pernah diikuti subjek penelitian

Alat ukur : Kuesioner

Cara ukur : Wawancara

Hasil Ukur : Klasifikasi tingkat pendidikan

Tabel 3.2. Klasifikasi tingkat pendidikan

Klasifikasi	Tingkat pendidikan
Sangat rendah	- Tidak pernah sekolah
	- Tidak tamat SD/ sederajat
Rendah	- Tamat SD/ sederajat
	- Tamat SMP/ sederajat
Menengah	- Tamat SMA/ sederajat
Tinggi	- Tamat D1/ D2/ D3/ perguruan tinggi

Diolah dari sumber referensi no. ⁶⁵

3. Pendapatan

Definisi : Pendapatan total yang diperoleh dari seluruh anggota keluarga per bulan dibandingkan dengan nilai Upah Minimum Provinsi (UMP) DKI Jakarta 2015 yang berjumlah Rp.2.700.000

Alat ukur : Kuesioner

Cara ukur : Wawancara

Hasil Ukur : Klasifikasi pendapatan: di bawah UMP ($<$ dari Rp. 2.700.000) dan di atas UMP ($\geq$ Rp. 2.700.000)

4. IMT trimester I

- Definisi : Rasio antara berat badan dalam kilogram sebelum hamil dengan kuadrat tinggi badan dalam meter. Berat badan sebelum hamil diperoleh dari buku KIA dan tinggi badan diperoleh dari hasil pengukuran dengan *shorrboard*.
- Alat ukur : Antropometri
- Cara ukur : Perhitungan dengan membagi berat badan sebelum hamil dengan kuadrat tinggi badan.
- Hasil Ukur : Nilai dalam kg/m^2 dan klasifikasi IMT.

Tabel 3.3. Klasifikasi Indeks Massa Tubuh

IMT (kg/m^2)	Interpretasi
$\leq 18,5$	Berat badan kurang
18,5–24,9	Normal
25,0–29,9	Berat badan lebih
$\geq 30,0$	Obesitas

Diolah dari sumber referensi no. ⁶⁶

5. Peningkatan berat badan selama kehamilan

- Definisi : Rasio antara berat badan dalam kilogram sebelum hamil dengan kuadrat tinggi badan dalam meter. Berat badan sebelum hamil diperoleh dari buku KIA dan tinggi badan diperoleh dari hasil pengukuran dengan *shorrboard*.
- Alat ukur : Antropometri
- Cara ukur : Perhitungan dengan membagi berat badan sebelum hamil dengan kuadrat tinggi badan.
- Hasil Ukur : Nilai dalam kg/m^2 dan klasifikasi IMT.

Tabel 3.4. Peningkatan Berat Badan Selama Kehamilan berdasarkan IMT dan Klasifikasi Kenaikan Berat Badan

IMT awal (kg/m ²)	Status BB sebelum hamil	Total kenaikan BB yang disarankan (kg)	Klasifikasi Kenaikan BB
≤18,5	Kurang	12,7 – 18	Kurang/Cukup/Lebih
18,5–24,9	Normal	11,3 – 15,9	Kurang/Cukup/Lebih
25,0–29,9	<i>Overweight</i>	6,8 – 11,3	Kurang/Cukup/Lebih
≥30,0	Obes	5-9 kg	Kurang/Cukup/Lebih

Diolah dari sumber referensi no. ⁴³

6. Asupan energi

Definisi : Banyaknya jumlah energi yang diperoleh dari asupan yang dikonsumsi per individu per hari menggunakan perangkat lunak nutrisurvey 2007.

Alat ukur : *SQ-FFQ*

Cara ukur : Wawancara

Hasil Ukur : Nilai dalam kkal/hari

Tabel 3.5. Klasifikasi Asupan Energi

Asupan Energi (kilokalori/hari)	Interpretasi
<2450	Kurang
2450-2550	Normal
>2550	Lebih

Diolah dari sumber referensi no. ⁶⁶

7. Asupan makronutrien

7a. Asupan karbohidrat

Definisi : Banyaknya karbohidrat yang diperoleh dari asupan yang dikonsumsi per individu per hari menggunakan perangkat lunak nutrisurvey 2007. Data yang didapat dinyatakan dalam gram/hari.

Alat ukur : *SQ-FFQ*

Cara ukur : Wawancara

Hasil Ukur : Nilai dalam gram/hari

7b. Asupan protein

- Definisi : Banyaknya protein yang diperoleh dari asupan yang dikonsumsi per individu per hari menggunakan perangkat lunak nutrisurvey 2007. Data yang didapat dinyatakan dalam gram/hari.
- Alat ukur : *SQ-FFQ*
- Cara ukur : Wawancara
- Hasil Ukur : Nilai dalam gram/hari dan persentase terhadap asupan energi

7c. Asupan lemak

- Definisi : Banyaknya lemak yang diperoleh dari asupan yang dikonsumsi per individu per hari menggunakan perangkat lunak nutrisurvey 2007. Data yang didapat dinyatakan dalam gram/hari.
- Alat ukur : *SQ-FFQ*
- Cara ukur : Wawancara
- Hasil Ukur : Nilai dalam gram/hari

8. Jumlah mikrobiota *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* dan *Staphylococcus*

- Definisi : Komposisi DNA bakteri *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* dan *Staphylococcus* dari pemeriksaan sampel feses
- Alat ukur : Perangkat *quantitative real time-polymerase chain reaction* (qRT-PCR)
- Cara ukur : qRT-PCR
- Hasil Ukur : Nilai dalam sel/200 mg feses

9. Berat badan lahir bayi

- Definisi : Berat badan yang segera diukur setelah lahir (maksimal 1 jam setelah lahir)
- Alat ukur : Antropometri
- Cara ukur : Penimbangan berat badan bayi
- Hasil Ukur : Nilai dalam gram,

Tabel 3.6. Klasifikasi Berat Badan Lahir Bayi

Berat Badan Lahir (gram)	Interpretasi
<2500	Kurang
2500-4000	Normal
>4000	Lebih

Diolah dari sumber referensi no. ⁶⁶

3.9 Pengolahan, Analisis, Interpretasi dan Penyajian Data

Data yang diperoleh dari penelitian akan diolah dengan menggunakan program SPSS (*Statistical Package For Social Sciences*) versi 20.

- Karakteristik dasar subjek penelitian yang berskala ordinal disajikan dalam bentuk n (%).
- Karakteristik dasar subjek penelitian yang berskala rasio disajikan dalam bentuk rerata $\pm$ standar deviasi bila distribusi data normal, bila data tidak normal disajikan dalam median (nilai maksimum–nilai minimum). Uji normalitas data dilakukan dengan uji Kolmogorov-Smirnoff.
- Data korelasi dianalisis dengan uji korelasi Pearson bila data berdistribusi normal dan dengan uji korelasi Spearman's bila distribusi data tidak normal. Batas kemaknaan ditetapkan $p < 0,05$.
- Analisis bivariat dengan uji *partial correlation* digunakan untuk meng-*adjust* variabel pengganggu. Batas kemaknaan ditetapkan $p < 0,05$.

Data disajikan dalam bentuk tabel, diagram, dan deskripsi hasil yang berkaitan.

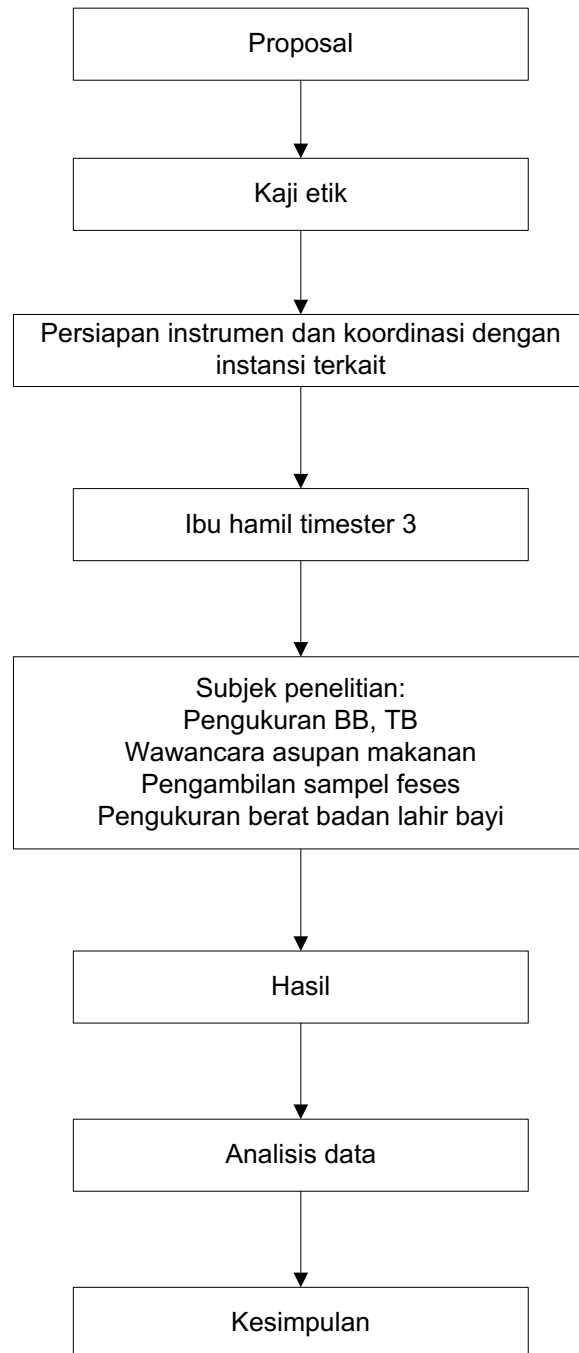
3.10 Organisasi Penelitian

Peneliti : dr. Alexander Halim Santoso

Pembimbing 1 : Dr. dr. Inge Permadhi, MS, SpGK

Pembimbing 2: Prof. Dr. dr. Agus Firmansyah, SpA (K)

3.3 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

BAB 4

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Departemen Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia yang berjudul “Peran Gizi, *Maternal Factors*, dan Pelayanan Kesehatan pada Fetal Programming terhadap Komposisi Mikrobiota dan Berat Badan Lahir: Studi Kohort di Jakarta Timur, DKI Jakarta, 2014”. Penelitian tersebut merupakan penelitian potong lintang yang dilaksanakan di 10 puskesmas kecamatan se Jakarta Timur dari bulan Februari hingga April 2015. Dari penelitian ini diperoleh, 52 subjek ibu hamil trimester ketiga yang dapat dianalisis sampel fesesnya dan diukur berat badan lahir bayinya.

4.1 Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik subjek penelitian pada tabel 4.1 memperlihatkan rerata usia subjek penelitian tergolong usia dewasa, dengan 82,7% subjek berpendidikan menengah dan rendah serta 59,6% subjek memiliki pendapatan di bawah UMP. Lebih dari separuh (82,7%) subjek, memiliki asupan energy yang tergolong kurang. Asupan karbohidrat, protein dan lemak, masing-masing pada 46%, 11% dan 28% subyek tergolong kurang. Berdasarkan IMT pada trimester pertama, 26,9% subjek tergolong normal dan 73,1% tergolong lebih sampai obese. Lebih dari separuh subjek (55,8%) mengalami penambahan berat badan selama kehamilan yang tergolong kurang, namun demikian seluruh bayi yang dilahirkan memiliki berat badan dalam batas normal.

4.2. Korelasi Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi

Analisis selanjutnya memperlihatkan tidak ada korelasi di antara asupan energi dengan peningkatan berat badan ibu selama kehamilan ($r = 0,113$, $p = 0,424$). Tabel 4.2 memperlihatkan asupan zat gizi tidak berkorelasi dengan berat badan lahir bayi.

Tabel 4.1 Sebaran Karakteristik Subjek (n = 52)

Karakteristik Ibu Hamil	Nilai	Jumlah (%)
Usia (tahun)	28,98 ± 5,83	
Pendidikan		
1. Sangat rendah		4 (7,7%)
2. Rendah		17 (32,7%)
3. Menengah		26 (50%)
4. Tinggi		5 (9,6%)
Pendapatan (Rp)	2500.000 (500.000 – 22.000000)	
1. Di bawah UMP		31 (59,6%)
2. Di atas UMP		21 (40,4%)
Asupan energi (kcal/hari)	2446,94 ± 952,55	
1. Kurang		43 (82,7%)
2. Cukup		2 (3,8%)
3. Lebih		7 (13,5%)
Asupan makronutrien		
Karbohidrat (g/hari)	282,12 ± 111,7	
Rasio karbohidrat/asupan energi (%)		46%
Lemak (g/hari)	76,25 ± 32,7	
Rasio lemak/asupan energi (%)		29%
Protein (g/hari)	66,75 ± 27,5	
Rasio proteint/asupan energi (%)		11%
IMT trimester pertama (kg/m ²)	23,28 (15,93-34,13)	
1. Kurang		0 (0%)
2. Normal		14 (26,9%)
3. Lebih		25 (48,1%)
4. Obese		13 (25%)
Peningkatan BB selama kehamilan (kg)	9,55 ± 4,74	
1. Kurang		29 (55,8%)
2. Cukup		16 (30,8%)
3. Lebih		7 (13,5%)

Keterangan: IMT: indeks massa tubuh; BB: berat badan

Tabel 4.2. Korelasi Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi

Asupan zat gizi	Berat badan lahir bayi	
	r	p
Energi	0,035	0,804
Karbohidrat	0,01	0,09
Protein	0,20	0,164
Lemak	0,082	0,572

4.3. Korelasi Jumlah Mikrobiota Usus Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi

Tabel 4.3 memperlihatkan jumlah *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* yang lebih tinggi tidak bermakna pada kelompok subjek dengan status gizi cukup dibandingkan subjek dengan status gizi kurang dan lebih. Sedangkan *Staphylococcus* ditemukan lebih tinggi tidak bermakna pada kelompok subjek dengan status gizi lebih dibandingkan pada kelompok subjek dengan status gizi kurang dan cukup.

Hasil korelasi pada tabel 4.4 memperlihatkan tidak adanya perbedaan jumlah mikrobiota *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* terhadap kategori pertambahan berat badan selama kehamilan, sedangkan jumlah *Staphylococcus* meningkat bermakna pada kelompok subjek dengan pertambahan berat badan yang cukup.

Tabel 4.3. Perbedaan Jumlah Mikrobiota Usus Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Status Gizi Ibu Trimester Pertama

Jumlah Mikrobiota	Status Gizi Ibu Hamil Trimester Pertama		p
	Normal (n=14)	Over-Obese (n=38)	
<i>Bifidobacterium</i> (Log sel/200 mg)	7,17 ± 0,68	7,13 ± 0,96	0,695
<i>Lactobacillus</i> (Log sel/200 mg)	10,72 ± 1,41	10,59 ± 1,19	0,188
<i>Staphylococcus</i> (sel/200 mg)	1224,07 ± 668,18	1641,06 ± 127,40	0,841

Tabel 4.4. Perbedaan Jumlah Mikrobiota Usus Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Pertambahan Berat Badan selama Kehamilan

Jumlah mikrobiota (sel/200 mg)	Pertambahan Berat Badan Selama Kehamilan (kg)			p
	Kurang (n = 29)	Cukup (n = 16)	Lebih (n = 7)	
<i>Bifidobacterium</i>	2,82x10 ⁷	7,6x10 ⁶	4,6x10 ⁷	0,273
	(3,6x10 ⁵ -6,2x10 ⁸)	(3,8x10 ⁴ -5,0x10 ⁸)	(1,29x10 ⁶ -8,5x10 ⁷)	
<i>Lactobacillus</i>	7,58x10 ¹⁰	1,38x10 ¹⁰	6,93x10 ¹⁰	0,299
	(3,4x10 ⁷ -8,1x10 ¹²)	(5,3x10 ⁸ -6,6x10 ¹²)	(3,3x10 ¹⁰ -5,3x10 ¹¹)	
<i>Staphylococcus</i>	0 (0-48400)	270,02 (0-5005)	0 (0-68,3)	0,048

Pada tabel 4.5 diperlihatkan bahwa tidak terdapat korelasi antara jumlah mikrobiota *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* dan *Staphylococcus* dengan berat badan lahir bayi.

Tabel 4.5. Korelasi Jumlah Mikrobiota Usus Ibu Hamil Trimester ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi

Jumlah Mikrobiota Ibu Hamil	Berat Badan Lahir Bayi	
	r	p
<i>Bifidobacterium</i>	0,134	0,344
<i>Lactobacillus</i>	-0,118	0,406
<i>Staphylococcus</i>	0,43	0,762

BAB 5

PEMBAHASAN

5.1 Sebaran Karakteristik Subjek

Rerata usia subjek penelitian adalah $28,98 \pm 5,83$ tahun. Nilai tersebut sesuai dengan Profil Kesehatan Indonesia tahun 2013 yaitu usia ideal ibu hamil berada pada usia 20-35 tahun.⁶⁷

Pada penelitian ini, 82,7% subjek berpendidikan menengah hingga rendah, dengan pendapatan sebagian besar subjek di bawah UMP. Tingkat ekonomi dan taraf pendidikan ibu hamil berhubungan dengan status gizi seorang ibu hamil. Kemiskinan akan membatasi ibu hamil mendapatkan asupan zat gizi yang adekuat. Tingkat edukasi yang rendah akan membatasi ibu hamil memiliki ilmu pengetahuan dasar tentang pentingnya asupan gizi yang optimal.⁴³ Moreira dkk.⁶⁸ dalam penelitiannya mendapatkan bahwa semakin tinggi tingkat pendidikan berhubungan dengan meningkatnya pengetahuan untuk mengonsumsi makanan yang bergizi seperti nasi dengan lauk pauk ditambah dengan buah, sayuran, susu dan ikan, dibandingkan dengan kelompok yang tingkat pendidikannya rendah. Kurangnya pengetahuan tentang zat gizi, cara memasak, dan kemampuan yang rendah untuk memasak diduga berperan terhadap rendahnya asupan zat gizi yang dikonsumsi. Asupan zat gizi yang tidak adekuat pada akhirnya akan mempengaruhi status gizi ibu hamil⁴³ dan selanjutnya dapat mempengaruhi berat badan lahir bayi.

Hampir 82,7% subyek penelitian mengonsumsi energi yang tergolong kurang, dengan rerata asupan energi sebesar $2446,94 \pm 952,55$ kkal per hari, sedikit lebih rendah dari rekomendasi AKG 2013 ibu hamil trimester ketiga. Pada penelitian ini tidak terdapat perbedaan asupan energi yang signifikan pada ketiga kelompok peningkatan BB selama kehamilan. Penelitian oleh Rukmana dkk.⁶⁹ di Semarang menunjukkan adanya hubungan yang positif antara asupan energi ibu hamil pada trimester ketiga dengan lingkaran lengan atas (LLA) yang merupakan baku emas pengukuran status gizi ibu hamil. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran LLA sehingga hanya diketahui peningkatan berat badan dari penimbangan berat badan pada buku ANC subjek ibu hamil. Beberapa kelemahan

dari penimbangan berat badan adalah apabila digunakan timbangan dan cara pengukuran yang berbeda-beda maka tidak didapatkan hasil yang konsisten.

Pada penelitian ini didapatkan proporsi perbandingan asupan makronutrien dengan asupan energi sebagai berikut, karbohidrat : lemak : protein adalah 60% : 29% : 11%. Hasil ini hampir sama dengan proporsi asupan makronutrien per energi total ibu hamil trimester ketiga menurut AKG 2013 yaitu karbohidrat : lemak : protein sebesar 58% : 30% : 12%, yang merupakan proporsi zat gizi seimbang untuk orang dewasa sehat. Pada penelitian didapatkan nilai protein sebesar 66 gram/hari, sedangkan kebutuhan berdasarkan AKG 2013 untuk ibu hamil, minimal adalah 76 gram/hari. Data penelitian ini memperlihatkan jumlah asupan lemak yang sudah sesuai dengan rekomendasi AKG 2013, sedangkan asupan karbohidrat tergolong kurang. Kecukupan protein merupakan faktor yang penting bagi ibu dan pertumbuhan dan perkembangan bayi, sehingga kekurangan asupan protein pada ibu hamil dapat menyebabkan berbagai *outcome* bayi yang berisiko seperti BBLR.⁷⁰

Berdasarkan klasifikasi IMT menurut WHO⁶⁶, pada trimester pertama terdapat 26,9% subjek yang memiliki IMT normal dan 73,1% subyek yang memiliki IMT lebih dan obese. Status gizi ibu diketahui memiliki pengaruh pada *outcome* kehamilan dan BB bayi. WHO *collaborative study* menunjukkan status gizi ibu sebelum hamil yang buruk akan meningkatkan risiko BBLR 2,38 (95% CI 2,1,2,5) dibandingkan status gizi baik. Penelitian di India memperlihatkan risiko BBLR pada ibu dengan status gizi kurang meningkat tiga kali lipat dibanding status gizi normal.⁷

Pada penelitian ini digunakan kriteria peningkatan berat badan ibu hamil menggunakan klasifikasi dari IOM.⁴⁵ Peningkatan berat badan, sebagian besar (55,8%) subyek penelitian tergolong kurang dengan rerata $9,55 \pm 4,74$ kg. Nilai rerata kenaikan berat badan sebenarnya sudah sesuai dengan rekomendasi kenaikan berat badan oleh WHO untuk ibu hamil di negara berkembang yaitu sebesar 5-9 kg selama kehamilan.⁷¹ Kenaikan BB selama hamil yang rendah berhubungan dengan peningkatan risiko BBLR.⁵ Dalam penelitian ini diketahui lebih dari 73% subjek tergolong dalam status gizi lebih sampai obese pada trimester pertama kehamilan

sehingga peningkatan berat badan subjek penelitian dibatasi 5-7 kg selama kehamilan.⁴⁵

5.2. Korelasi Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir.

Pada penelitian ini terlihat adanya korelasi yang tidak bermakna antara asupan energi dan makronutrien dengan BB lahir bayi. Pada penelitian ini terlihat mungkin terdapat korelasi antara asupan karbohidrat dengan BB lahir bayi walaupun secara statistik tidak bermakna ($r = 0,01$; $p = 0,09$). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian oleh Poon dkk.⁷² yang menunjukkan bahwa BB lahir bayi tidak berhubungan dengan asupan ibu. Pada penelitian oleh Moore dkk.⁷³ memperlihatkan komposisi zat gizi asupan ibu selama trimester ketiga secara umum tidak berhubungan dengan BB lahir bayi walaupun terdapat kecenderungan adanya hubungan terbalik antara asupan karbohidrat dengan BB lahir bayi. Pada penelitian tersebut proporsi asupan karbohidrat lebih rendah yaitu sebesar 49,2% dengan proporsi protein yang lebih tinggi yaitu 16,2% dan lemak 32,8% dari total energi. Sebaliknya pada penelitian ini asupan protein lebih rendah yaitu 11%, lemak 29%, dan karbohidrat 60%. Penelitian lainnya oleh Rao dkk.⁷⁴ di daerah pedesaan di India memperlihatkan asupan karbohidrat dan protein tidak berhubungan dengan BB lahir bayi namun asupan lemak yang lebih tinggi berhubungan dengan panjang badan lahir bayi ($p < 0,001$). Akan tetapi pada penelitian tersebut asupan energi dan protein rendah, sekitar 70–75% dari asupan yang direkomendasikan serta penilaian asupan dilakukan pada kehamilan minggu ke-18 atau trimester kedua.

Hasil yang berbeda didapatkan pada penelitian oleh Zulfiqar dkk.⁷⁵ yaitu terdapat hubungan positif antara asupan energi pada trimester ketiga dengan BB lahir bayi. Penelitian oleh Godfrey dkk.⁷⁶ memperlihatkan ibu dengan asupan tinggi karbohidrat pada awal kehamilan dan protein yang rendah pada akhir kehamilan cenderung memiliki bayi dengan BB lahir yang lebih rendah.

5.2 Korelasi Jumlah Mikrobiota Usus dengan Berat Badan Lahir Bayi

Pada penelitian ini tidak ditemukan korelasi antara jumlah mikrobiota *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* dan *Staphylococcus* dengan berat badan lahir bayi. Penelitian Santacruz dkk.¹¹ juga tidak memperlihatkan adanya korelasi antara mikrobiota *Bifidobacterium* dan *Staphylococcus* dengan berat badan lahir bayi, namun terdapat korelasi negatif bermakna antara *Lactobacillus* dengan berat badan lahir. Peran mikrobiota terhadap berat badan lahir bayi sampai saat ini masih belum diketahui dengan jelas. Berat badan lahir bayi dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain genetik, asupan nutrisi^{7,44-46}, status gizi^{8,53,77} dan merokok.^{57,78,79}

Pada penelitian ini dilakukan analisis tambahan mengenai status gizi ibu hamil trimester pertama dengan jumlah mikrobiota usus. Hasil analisis didapatkan jumlah *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* yang lebih tinggi pada kelompok subjek dengan IMT normal dibandingkan IMT lebih. Sebaliknya jumlah *Staphylococcus* lebih tinggi pada kelompok subjek dengan IMT lebih dibandingkan IMT normal, walaupun peningkatan tersebut tidak berbeda bermakna. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian dari Collado dkk.¹² dimana jumlah *Bifidobacterium* lebih tinggi pada kelompok subjek dengan IMT normal sedangkan *Staphylococcus* lebih tinggi bermakna pada kelompok subjek dengan IMT lebih. Penelitian oleh Santacruz¹¹ terlihat jumlah *Bifidobacterium* lebih tinggi bermakna pada subjek dengan IMT normal. Jumlah *Lactobacillus* dan *Staphylococcus* lebih tinggi pada kelompok subjek dengan IMT lebih, namun perbedaan yang bermakna hanya terlihat pada mikrobiota *Staphylococcus*. Peningkatan jumlah *Firmicutes* juga terlihat pada orang dewasa obese.¹³

Selanjutnya, dilakukan analisis perbandingan antara jumlah *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* dan *Staphylococcus* dengan peningkatan berat badan ibu hamil selama kehamilan yang dikategorikan menurut IOM. Jumlah *Bifidobacterium* dan *Staphylococcus* meningkat pada kelompok subjek dengan peningkatan berat badan cukup, sedangkan *Lactobacillus* meningkat pada kelompok subjek dengan peningkatan berat badan lebih. Hasil yang sesuai ditemukan oleh Santacruz dkk.¹¹ yang menemukan peningkatan pada *Bifidobacterium* dan *Staphylococcus* pada kelompok subjek dengan peningkatan berat badan normal, dan peningkatan *Lactobacillus* pada kelompok subjek dengan peningkatan berat badan lebih namun tidak bermakna. Faktor yang mempengaruhi

hal tersebut belum diketahui dengan jelas. Penelitian pada hewan coba didapatkan penurunan jumlah *Bifidobacterium* pada tikus yang diberi diet tinggi lemak. Pemberian diet tinggi lemak akan menyebabkan peningkatan inflamasi dan gangguan toleransi glukosa. Kondisi ini mungkin didapatkan pada kelompok subjek dengan peningkatan berat badan lebih.

Keterbatasan Penelitian

Sejumlah keterbatasan dalam penelitian ini antara lain proses seleksi subjek yang memungkinkan terjadinya *selection bias*, kurangnya sumber daya manusia untuk memantau proses penelitian. Penggunaan *SQ-FFQ* dalam mendapatkan data asupan energi memungkinkan terjadinya *recall bias* dan bias pengukuran walaupun sudah digunakan kumpulan foto bahan makanan. Penggunaan enumerator yang sudah dilatih masih memungkinkan terjadinya *interviewer bias* dalam mendapatkan data asupan.

Pada penelitian ini juga tidak diketahui komposisi mikrobiota pada awal kehamilan sehingga tidak dapat diketahui perubahannya pada trimester ketiga.

BAB 6

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

1. Pada penelitian ini tidak didapatkan korelasi antara asupan zat gizi ibu hamil trimester ketiga dengan berat badan lahir bayi.
2. Pada penelitian ini tidak didapatkan korelasi antara komposisi mikrobiota *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* dan *Staphylococcus* ibu hamil trimester ketiga dengan berat badan lahir bayi.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian kohort yang dapat menilai perubahan status gizi ibu dan komposisi mikrobiota dari trimester pertama sampai dengan trimester ketiga.
2. Perlu dilakukan perbaikan metode penelitian berupa penghitungan besar *power* guna mendapatkan jumlah sampel yang lebih tepat.
2. Perlu dilakukan perbaikan metode penelitian berupa *food weighing* dan *food diary* supaya didapatkan hasil pengukuran asupan yang lebih tepat.
3. Perlu dilakukan penyuluhan yang kontinu tentang peran menjaga status gizi ibu sebelum dan selama kehamilan.

DAFTAR REFERENSI

1. Wilcox AJ. On the importance-and the unimportance-of birthweight. *Int Epidemiol Assoc.* 2001;30:1233–41.
2. Lawn JE, Cousens S, Zupan J. 4 million neonatal deaths: when? where? why? *Lancet.* 2005;365:891–900.
3. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. *Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013.* Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI; 2013.
4. Sirimi N, Goulis DG. Obesity in pregnancy. *Hormones.* 2010;9(4):299–306.
5. Grieger JA, Clifton VL. A review of the impact of dietary intakes in human pregnancy on infant birthweight. *Nutrients.* 2015;7:153–78.
6. Nucci LB, Schmidt MI, Duncan BB, Fuchs SC, Fleck ET, Britto MMS. Nutritional status of pregnant women: prevalence and associated pregnancy outcomes. *Rev Saude Publica.* 2001;35(6):502–7.
7. Muthayya S. Maternal nutrition & low birth weight - what is really important. *Indian J Med Res.* 2009;600–8.
8. Masho SW, Bishop DL, Munn M. Pre-pregnancy BMI and weight gain: where is the tipping point for preterm birth? *BMC Pregnancy Childbirth.* 2013;13(120):1–12.
9. Sekirov I, Russel SL, Antunes CM, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev.* 2010;90:859–904.
10. Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, Spor A, Laitinen K, Backhed HK, et al. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell.* 2012;150:470–80.
11. Santacruz A, Colado MC, Garcia-Valdes L, Segura MT, Martin-Lagos JA, Anjos T, et al. Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women. *Br J Nutr.* 2010;104:85–92.
12. Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *Am J Clinical Nutr.* 2008;88:894–9.
13. Cani P, Amar J, Iglesias M, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes.* 2007;56:1761–72.

14. Umu OCO, Oostindjer M, Pope PB, Svihus B, Egelanddal B, Nes IF, et al. Potential applications of gut microbiota to control human physiology. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2013;104:609–18.
15. Cummings J. Short chain fatty acids in the human colon. *Gut*. 1981;22:763–9.
16. Topping D, Clifton P. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and non starch polysaccharides. *Physiol Rev*. 2001;81:1031–64.
17. Scott KP, Gratz SW, Sheridan PO, Flint HJ, Duncan SH. The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacol Res*. 2013;69:52–60.
18. Duncan SH, Belenguer A, Holtrop G, Johnstone A, Flint HJ, Lobley GE. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. *Appl Environmental Microbiol*. 2007;73(4):1073–8.
19. Shen Q, Chen Y, Tuohy K. A comparative in vitro investigation into the effects of cooked meats on the human faecal microbiota. *Anaerobe*. 2010;16:572–7.
20. Hildebrandt MA, Hoffman C, Sherill-Mix SA, Keilbaugh SA, Hamady M, Chen Y-Y, et al. High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. *Gastroenterology*. 2009;137:1716–24.
21. Faruk A, Tseng M. Diet and nutritional status during pregnancy. *Public Health Nutr*. 2013;16(8):1337–9.
22. Queipo-Ortuno MI, Seoane LM, Murri M, Pardo M, Gomez-Zumaquero JM, Cardona F, et al. Gut microbiota composition in male rat models under different nutritional status and physical activity and its association with serum leptin and ghrelin levels. *Plos One*. 2013;8(5):1–11.
23. Rasmussen KM, Yaktine AL. Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines. *The National Academies Press*; 2009. 863.
24. *Weight management before, during and after pregnancy*. National Institute for Health and care Excellence; 2010.
25. *Management of obesity in pregnancy*. The Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynecologists; 2013.
26. Tanentsapf I, Heitman BL, Adegboye AR. Systematic review of clinical trials on dietary interventions to prevent excessive weight gain during pregnancy among normal weight, overweight and obese women. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2011;11:1–12.

27. Harley IT, Karp CL. Obesity and the gut microbiome: striving for causality. *Mol Metab.* 2012;1:21–31.
28. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Abdul Wahab MS. Modulation of gut microbiota in the management of metabolic disorders: the prospects and challenges. *Int J Mol Sci.* 2014;15:4158–88.
29. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snidjers B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics.* 2006;118(2):511–21.
30. Collado MC, Cernada M, Bauerl C, Vento M, Perez-Martinez G. Microbial ecology and host-microbiota interactions during early life stages. *Gut Microbes.* 2012;3-4:352–65.
31. Salazar N, Arboleya S, Valdes L, Stanton C, Ross P, Ruiz L, et al. The human intestinal microbiome at extreme ages of life. Dietary intervention as a way to counteract alterations. *Front Genet.* 2014;5(406):1–9.
32. Mariat D, Firmesse O, Levenez F, Guimaraes V, Sokol H, Dore J, et al. The Firmucute/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol.* 2009;9(123):1–6.
33. Woodmansey EJ, McMurdo ME, Macfarlane GT, Macfarlane S. Comparison of compositions and metabolic activities of fecal microbiotas in young adults and in antibiotic-treated and non-antibiotic-treated elderly subjects. *Appl Environmental Microbiol.* 2004;70(10):6113–22.
34. Perez-Cobaz AE, Gosalbes MJ, Friedrichs A, Knecht H, Artacho A, Eismann K, et al. Gut microbiota disturbance during antibiotic therapy: a multi-omic approach. *Gut.* 2012;0:1–11.
35. Preidis GA, Versalovic J. Targeting the human microbiome with antibiotics, probiotics, and prebiotics: gastroenterology. *Gastroenterology.* 2009;136(6):2015–31.
36. De La Cochetiere M, Durand T, Lalande V. Effect of antibiotic therapy on human fecal microbiota and the relation to the development of *Clostridium difficile*. *Microb Ecol.* 2008;56:395–402.
37. Vidal A, Murphy S, Murtha A, Schildkraut J, Soubry A, Huang Z, et al. Associations between antibiotic exposure during pregnancy, birth weight and aberrant methylation at imprinted genes among offspring. *Int J Obes.* 2013;37:907–13.
38. Mueeler N, Whyatt R, Hoepner L, Oberfield S, Dominguez-Bello M, Widen E, et al. Prenatal exposure to antibiotics, cesarean section and risk of childhood obesity. *Int J Obes.* 2014;1–6.

39. *Low birth weight: country, regional and global estimates*. WHO Unicef; 2004.
40. Jeid SS, Abbas IM. Impact of maternal risk factors on birth weight of newborn in two maternity hospitals in Baghdad city. *Sci J Nurs*. 2006;18:55–64.
41. Hayes M, Abrams B, Davidson EC, Gelberg L, Gillman MW, King JC, et al. Influence of pregnancy weight on maternal and child health. *The National Academies Press, Washington DC*; 2007.
42. Carlo W. Prematurity and intrauterine growth restriction. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 19th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2011.
43. Rao KA. Landscaping of maternal nutritional status in India. Maternal Nutrition. *Nestle Nutrition Institute*; 2013.
44. Abu-Saad K, Fraser D. Maternal nutrition and birth outcomes. *Epidemiol Rev*. 2010;32:5–25.
45. King JC, Butte NF, Chez RA, Haas JD, Kleinman JC, Kramer MS, et al. Nutrition during Pregnancy. Washington D.C.: *The National Academies Press*; 1990.
46. Brown JE. *Nutrition during pregnancy*. Nutrition through the life cycle. 4th ed. USA: Cengage Wadsworth; 2011. p. 87–133.
47. Cuco G, Arija V, Iranzo R, Vila J, Prieto M, Fernandez-Ballart J. Association of maternal protein intake before conception and throughout pregnancy with birth weight. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2006;85(4):413–21.
48. Olsen SF, Secher NJ. Low consumption of seafood in early pregnancy as a risk factor for preterm delivery: prospective cohort study. *BMJ*. 2002;324:1–5.
49. Cogswell ME, Parvanta I, Ickes L, Yip R, Brittenham GM. Iron supplementation during pregnancy, anemia, and birth weight: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2003;78:773–81.
50. Antony AC. In utero physiology: role of folic acid in nutrient delivery and fetal development. *Am J Clin Nutr*. 2007;85(supplement):598S–603S.
51. Fekete K, Berti C, Trovato M, Lohner S, Dullemeijer C, Souverein OW, et al. Effect of folate intake on health outcomes in pregnancy: a systematic review and meta-analysis on birth weight, placental weight and length of gestation. *Nutr J*. 2012;11(75):1–8.

52. Bernier JR, Hanson Y. *Overweight and obesity in pregnancy: a review of evidence [Internet]*. Canada; 2012. Available from: www.acewh.dal.ca:www.pwhce.ca
53. Cnattingius S, Bergstrom R, Lipworth L, Kramer MS. Prepregnancy weight and the risk of adverse pregnancy outcomes. *New Engl J Med*. 1998;338(3):147–52.
54. Mane S. Nutritional intervention for obesity in pregnancy and gestational diabetes mellitus. *Maternal Nutrition*. Nestle Nutrition Institute; 2013. p. 28–35.
55. Geiss O, Kotzias D. Tobacco, cigarettes and cigarette smoke an overview. Italy: *Institute for health and consumer protection*; 2007.
56. How tobacco smoke causes disease: the biology and behavioral basis for smoking-attributable disease. A report of the surgeon general. *US Department of Health and Human Services-Centers for Disease Control and Prevention*; 2010.
57. Bernstein I, Mongeon J, Badger G, Solomon L, Heil S, Higgins S. Maternal smoking and its association with birth weight. *Obstet Gynecol*. 2005;106:986–91.
58. Grandi C, Tapia JL, Cardoso VC. Impact of materbal diabetes mellitus on mortality and morbidity of very low birth weight infants: a multicenter Latin America study. *J Pediatr (Rio J)*. 2014;229:8.
59. Esakoff TF, Cheng YW, Sparks TN, Caughey AB. The association between birthweight 4000 g or greater and perinatal outcomes in patients with and without gestational diabetes mellitus. *Am J Obsteterics Gynecol*. 2009;200:672.e1–672.e4.
60. Bottacini F, Ventura M, van Sinderen D, Motherway MO. Diversity, ecology and intestinal function of bifidobacteria. *Microb Cell Factories*. 2014;13(Supplement 1):S4.
61. Roger LC, Costabile A, Holland DT, Hoyles L, McCartney AL. Examination of faecal Bifidobacterium populations in breast- and formula-fed infants during the first 18 months of life. *Microbiology*. 2010;156:3329–41.
62. Gomes AMP, Malcata FX. Bifidobacteriuim spp and Lactobacillus acidophilus: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends Food Sci Technol*. 1999;10:139–57.
63. Makarova KS, Koonin EV. Evolutionary genomics of lactic acid bacteria. *J Bacteriol*. 2007;189(4):1199–208.

64. Siezen RJ, van Hylckama Vlieg JE. Genomic diversity and versatility of *Lactobacillus plantarum*, a natural metabolic engineer. *Microb Cell Factories*. 2011;10 (suppl 1):1–13.
65. *Undang-Undang Republik Indonesia No 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional*. Departemen Agama Republik Indonesia; 2003.
66. WHO. *Obesity: preventing and managing the global epidemic*. Geneva: WHO; 2000.
67. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Profil kesehatan Indonesia tahun 2013*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2014.
68. Moreira PA, Padrao PD. Educational and economic determinants of food intake in Portuguese adults: a cross-sectional survey. *BMC Public Health*. 2004;4(58):1–11.
69. Rukmana SC. *Hubungan asupan gizi dan status gizi ibu hamil trimester III dengan berat badan lahir bayi di wilayah kerja Puskesmas Suruh*. Semarang; 2013.
70. WHO. Evidence and health information, Health situation in the south East Asia Region. *Trends Health Status*. 2006;
71. Ota E, Haruna M, Suzuki M, Dang DA, Lee HT, Thanh Tam NT, et al. Maternal body mass index and gestational weight gain and their association with perinatal outcomes in Viet Nam. *Bull World Health Organ*. 2011;89:127–36.
72. Poon AK, Yeung E, Boghossian N, Albert PS, Zhang C. Maternal dietary patterns during third trimester in association with birthweight characteristics and early infant growth. *Hindawi Publ Corp*. 2013;1–7.
73. Moore V, Davies MJ, Willson K, Worsley A, Robinson JS. Dietary composition of pregnant women is related to size of the baby at birth. *J Nutr*. 2004;134:1820–6.
74. Rao S, Yajnik C, Kanade A, Fall CH, Margetts BM, Jackson AA, et al. Intake of micronutrient-rich foods in rural indian mothers is associated with the size of their babies at birth: pune materna nutrition study. *J Nutr*. 2001;131:1217–24.
75. Zulfigar T, Rizvi F, Jalali S, Shami S, Tasnim N, Jahan S. Effects of maternal macronutrient intake in 3rd trimester of normal pregnancy on the maternal weight gain and neonatal birth weight of full term neonates. *Rawal Med J*. 2011;36(2):1–14.

76. Godfrey K, Barker D, Robinson S, Osmond C. Maternal birthweight and diet in pregnancy in relation to the infant's thinness at birth. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997;104(6):663–7.
77. Zhangbin Y, Shuping H, Jingai Z, Xiaofan S, Chengbo J, Xirong G. Pre-pregnancy body mass index in relation to infant birth weight and offspring overweight/obesity: a systematic review and meta-analysis. *Plos One.* 2013;8(4):1–11.
78. Brooke OG, Anderson HR, Bland JM, Peacock JL, Stewart CM. Effects on birth weight of smoking, alcohol, caffeine, socioeconomic factors, and psychosocial stress. *BMJ.* 1989;298:795–801.
79. Ward C, Lewis S, Coleman T. Prevalance of maternal smoking and enviromental tobacco some exposure during pregnancy and impact on birth weight: retrospective study using Millennium Cohort. *BMC Public Health.* 2007;7(81):1–7.
80. Joshi SM, Likhar S, Athavale A, Shukla U. Factors affecting birth weight: a study in a secondary level hospital in gas affected area of Bhopal. *Natl J Community Med.* 2013;4(4):570–3.
81. Rasmussen KM, Yaktine AL. Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines. *Inst Med Natl Res Counc.* 2009.
82. Kementerian Kesehatan. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia nomor 75 tahun 2013 tentang angka kecukupan gizi yang dianjurkan bagi bangsa Indonesia. Kementerian Kesehatan. 2013.

Lampiran 1
Formulir A

Kode Subjek :

Lembar Seleksi Subjek Penelitian

Tanggal Pemeriksaan :

Nama :

Tanggal Lahir/umur :

Alamat :

Kriteria inklusi

- | | | |
|--|----|-------|
| - Wanita hamil usia 19–44 tahun | Ya | Tidak |
| - Usia kehamilan 32-37 minggu | Ya | Tidak |
| - Melakukan pemeriksaan antenatal di Pukesmas kecamatan tempat penelitian. | Ya | Tidak |
| - Secara tertulis bersedia mengikuti penelitian dan menandatangani <i>informed consent</i> | Ya | Tidak |

Kriteria eksklusi

- | | | |
|---|----|-------|
| - Ibu dengan riwayat HIV–AIDS | Ya | Tidak |
| - Ibu menderita penyakit menular seksual, diabetes melitus dan diare kronik | Ya | Tidak |
| - Ibu merokok aktif sebelum dan selama kehamilan | Ya | Tidak |
| - Menggunakan antibiotik dalam 2 minggu terakhir | Ya | Tidak |

Kesimpulan : terpilih / tidak terpilih menjadi subjek penelitian

Keterangan : bila ada 1(satu) buah ”Tidak” pada kriteria penerimaan atau “Ya” pada kriteria penolakan, maka subjek penelitian ditolak menjadi subjek penelitian.

**RINCIAN INFORMASI KEPADA CALON SUBJEK PENELITIAN
KORELASI ANTARA JUMLAH MIKROBIOTA USUS DAN ASUPAN
ZAT GIZI IBU HAMIL TRIMESTER KETIGA DENGAN BERAT BADAN
LAHIR BAYI DI JAKARTA TIMUR**

Peneliti: dr. Alexander Halim Santoso

Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

Jl. Raya Salemba no. 6 Jakarta Pusat

Telepon seluler: 081245645474

Email: dr.alexasantoso@gmail.com

Saya adalah peneliti dari Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia yang berjudul **“Korelasi Antara Jumlah Mikrobiota Usus dan Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi di Jakarta Timur”**. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ada hubungan antara jumlah mikrobiota ibu hamil dengan berat badan bayi.

A. Partisipasi Sukarela

Ibu dapat ikut serta secara sukarela dalam penelitian ini tanpa ada paksaan dari pihak manapun. Partisipasi Ibu dalam penelitian ini tidak akan dikenakan biaya dalam bentuk apapun. Ibu berhak untuk mengundurkan diri atau membatalkan keikutsertaan Ibu dalam penelitian ini tanpa ada sanksi apapun dari peneliti.

B. Prosedur Penelitian

Bilamana ibu bersedia mengikuti penelitian ini:

1. Ibu diminta untuk menandatangani lembar persetujuan menjadi subjek penelitian.
2. Selanjutnya, ibu akan diwawancarai oleh enumerator ataupun oleh peneliti sendiri mengenai data usia, pendidikan, pendapatan, berat badan sebelum hamil, dan asupan makanan selama 24 jam terakhir dan satu bulan terakhir.
3. Ibu kemudian akan diukur berat badan dan tinggi badannya oleh enumerator

ataupun oleh peneliti sendiri.

4. Ibu kemudian akan diberikan pot steril untuk pengumpulan tinja oleh enumerator ataupun oleh peneliti sendiri.
5. Pada saat ibu melahirkan akan dilakukan penimbangan berat badan terhadap bayi yang dilahirkan.

C. Kewajiban Subjek Penelitian

Ibu harus mengikuti prosedur penelitian seperti yang dijelaskan di atas. Bila ada hal yang belum diketahui dengan jelas, ibu dapat bertanya kepada peneliti. Bila Ibu hendak membatalkan maupun mengundurkan diri dari penelitian ini, Ibu diwajibkan menyampaikan kepada peneliti.

D. Kompensasi

Sebagai kompensasi keikutsertaan Ibu dalam penelitian ini, Ibu akan mendapatkan penggantian uang transportasi sebesar Rp. 50.000,- per kunjungan dan suvenir di akhir penelitian.

E. Pertanyaan Penelitian

Bila ada hal-hal yang belum jelas menyangkut penelitian ini, Ibu dapat menanyakan kepada dr. Alexander Halim Santoso selaku peneliti dengan nomor kontak 081245645474.

**LEMBAR PERSETUJUAN MENGIKUTI PENELITIAN
KORELASI ANTARA JUMLAH MIKROBIOTA USUS DAN ASUPAN
ZAT GIZI IBU HAMIL TRIMESTER KETIGA DENGAN BERAT BADAN
LAHIR BAYI DI JAKARTA TIMUR**

Peneliti: dr. Alexander Halim Santoso

Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

Jl. Raya Salemba no. 6 Jakarta Pusat

Telepon seluler: 081245645474

Email: dr.alexsantoso@gmail.com

Setelah mendengarkan dan membaca penjelasan dari peneliti mengenai penelitian berjudul Hubungan Jumlah Mikrobiota Usus dan Asupan Zat Gizi Ibu Hamil Trimester Ketiga dengan Berat Badan Lahir Bayi di Jakarta Timur, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama :

Alamat :

.....

Telepon :

Menyatakan bersedia menjadi subjek penelitian secara sukarela tanpa ada paksaan dari pihak manapun. Saya akan mengikuti prosedur yang sudah dijelaskan oleh peneliti. Bilamana saya merasa dirugikan, saya berhak membatalkan persetujuan ini tanpa ada sanksi apa pun.

Jakarta, 2015

Enumerator/Peneliti

Subjek Penelitian

(Nama:)

(Nama:)

Formulir Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik

Ibu Hamil

Usia (tahun)

Pendidikan:

1. Sangat rendah
2. Rendah
3. Menengah
4. Tinggi

Pendapatan:

1. Di bawah UMP
2. Di atas UMP

Asupan Energi
(Kkal)

Karbohidrat (g/hari)

Protein (g/hari)

Lemak (g/hari)

IMT (kg/m²)

≤18,5

18,0-24,9

25,0-29,9

≥30,0

Lembar Pemeriksaan Antropometri

Status Gizi Ibu			
Tanggal Pengukuran:		Nama Pengukur	
Nama / Inisial Ibu:		Puskesmas	
BB Ibu sebelum hamil			kg
Pengukuran Berat Badan			
Pengukuran 1:			kg
Pengukuran 2:			kg
Berat badan rata-rata			kg
Pengukuran Tinggi Badan			
Pengukuran 1:			cm
Pengukuran 2:			cm
Tinggi badan rata-rata			cm
Indeks Massa Tubuh			
Pengukuran:			kg/m ²
Klasifikasi Indeks Massa Tubuh		1. Kurang	
		2. Cukup	
		3. Berlebih	

(Lanjutan)

Formulir F

Formulir Food Frequency Questionaere

Kode subjek :

Nama :

No	Bahan Makanan	Frekuensi				Jumlah		Cara penyajian
		x/hari *	x/minggu *	x/bulan*	Jarang/tidak pernah	URT	g	
.	Sumber Karbohidrat							
1.	Nasi Putih							
2.	Nasi goreng							
3.	Lontong sayur							
4.	Bubur ayam							
5.	Bubur sumsum							
6.	Ketoprak							
7.	Roti tawar							
8.	Roti bakar							
9.	Roti gandum							
10.	Lainnya							
	Sumber hewani							
1.	Ayam							
2.	Daging sapi							
3.	Daging kerbau							
4.	Daging babi							
5.	Bebek							
6.	Udang segar							
7.	Hati sapi							
8.	Hati ayam							
9.	Telur ayam							
10.	Telur bebek							
	Sumber Lemak							
1.	Minyak kelapa							
2.	Minyak sawit							
3.	Mentega							
	Lainnya							

(Lanjutan)

Formulir G

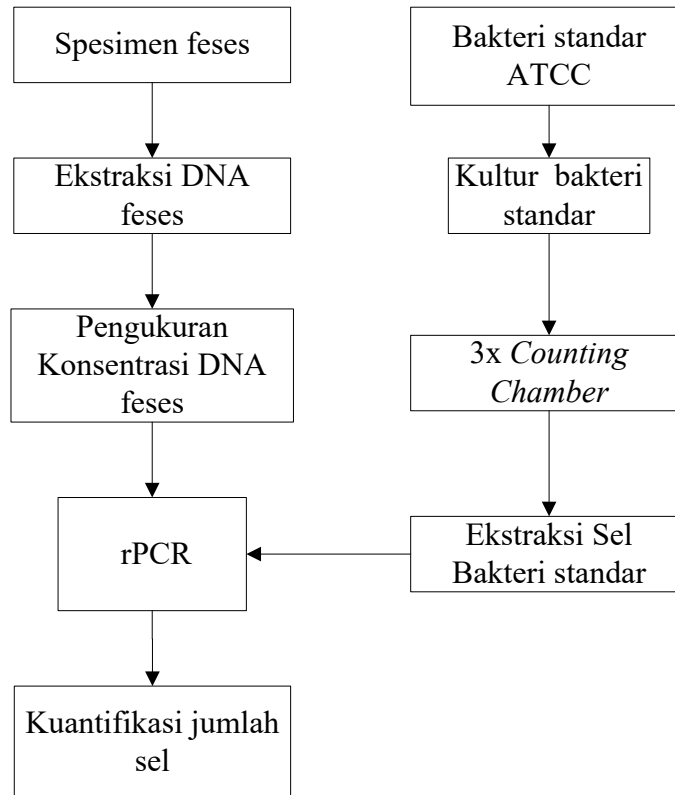
Lembar Pemeriksaan *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* dan *Staphylococcus*

Pemeriksaan Mikrobiota			
Tanggal Pemeriksaan:		Nama Pemeriksa	
Nama / Inisial Ibu		Puskesmas	
1. Jumlah <i>Bifidobacterium</i>			Cell/200mg
2. Jumlah <i>Lactobacillus</i>			Cell/200mg
3. Jumlah <i>Staphylococcus</i>			Cell/200mg

Lembar Hasil Penimbangan Berat Badan Lahir Bayi

Tanggal Pengukuran		Nama Pengukur	
Nama / Inisial Ibu		Puskesmas	
Jenis Kelamin Bayi			
Pengukuran Berat Badan			
1. Pengukuran 1:		gram	
2. Pengukuran 2:		gram	
Berat Badan rata-rata		gram	

Cara Kerja Pemeriksaan Mikrobiota



Pengambilan sampel feses

Alat yang digunakan:

- pot feses
- plastik penampung pot
- alas kertas untuk menampung feses

Prosedur

Feses yang sudah didapatkan segera setelah defekasi, disimpan di dalam *cooler box*, dan kemudian dibawa ke laboratorium untuk disimpan dalam freezer bersuhu -80°C . Pemeriksaan jumlah *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* dan *Staphylococcus* dilakukan serentak setelah semua sampel feses dikumpulkan. Metode pemeriksaan menggunakan metode *quantitative real-time* (rPCR.)

Penimbangan Sampel Feses

Alat yang digunakan

- Timbangan digital kasar
- Ose disposable
- Tusukan gigi steril

Prosedur

Timbangan diterakan. Kemudian diambil feses sebanyak 200 mg dalam ependorf.

Pemeriksaan Ekstraksi DNA Mikrobiota

Peralatan yang digunakan untuk mengekstraksi DNA dari sampel feses:

- Timbangan digital
- Pemanas (*heater*) merek *Talboys advance heatblock*
- Alat pengaduk merek *Pulse Vorteks Proximic 2*
- Alat *centrifuge* merek *SORVALL biofuge primo*
- Pipet mikro merek *Thermo scientific* ukuran 100 μ L, 200 μ L, 1000 μ L
- *Fume hood*
- Lemari pendingin (*Freezer*) bersuhu -80C
- Spatula
- *Beaker glass*
- Rak untuk tabung mikro
- Spektrofotometer nano
- *QIamp DNA mini spin column tube*
- Alat *centrifuge* merek KNCV Talbyre

Bahan untuk mengekstraksi DNA dari sampel

- Larutan penyangga ASL, AW2, AL
- Larutan *Proteinase X*
- Larutan *Proteinase K*
- Tablet *InhibitEx*
- Larutan alkohol 70%
- Sampel feses
- *Screw cap tube*
- *Microcentrifuge tube*
- Tips untuk pipet mikro

Prosedur

- Sampel feses yang sudah ditimbang (200 mg) dilarutkan dengan menggunakan penyangga ASL sebanyak 1 mL.
- Selanjutnya feses diaduk dengan menggunakan alat *pulse-vortexing Proximi II* selama 1 menit.
- Feses diinkubasi untuk melisiskan dinding sel bakteri pada suhu 95°C selama 5 menit.
- Larutan feses kemudian disentrifugasi menggunakan alat KNCV Talbyre dengan kecepatan 12.000 rpm selama 1 menit.
- Supernatan yang didapatkan dari hasil sentrifugasi dimasukkan ke dalam tabung microcentrifuge sebanyak 1.2 mL dan kemudian ditambahkan tablet InhibitEx. Pemberian tablet InhibitEx ditujukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri.
- Selanjutnya supernatan diaduk dengan alat *pulse-vortexing* kembali dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 1 menit.
- Supernatan selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 3 menit.
- Persiapkan tabung microcentrifuge baru dan tambahkan proteinase-K sebanyak 15 µL ke dalam tabung tersebut.
- Supernatan yang sudah disentrifugasi dipindahkan ke dalam tabung *microcentrifuge* baru sebanyak 200 µL dan kemudian ditambahkan larutan penyangga AL sebanyak 200 µL.
- Supernatan kemudian diaduk kembali dengan alat *pulse-vortexing* dan diinkubasi pada suhu 70° Celcius selama 10 menit. Setelah diinkubasi, supernatan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 1 menit.
- Setelah disentrifugasi, ke dalam supernatan ditambahkan etanol 100% sebanyak 200 µL. Larutan supernatan kemudian diaduk kembali dengan *pulse-vortexing* selama 15 detik, dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 1 menit.
- Larutan supernatan kemudian diambil sebanyak 600 µL dan diteteskan ke dalam tabung QIAamp DNA mini spin column.

- Colum kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 1 menit.
- Letakkan colum ke dalam tabung baru bervolume 2 ml, dan ditambahkan ke dalamnya larutan penyangga AW2 sebanyak 500 μ L.
- Tabung bersama colum kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 3 menit.
- Tabung berisi filtrat dibuang.
- Masukkan colum yang kering ke dalam tabung yang baru dan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 1 menit.
- Masukkan colum ke dalam tabung microcentrifuge bersih bervolume 1.5 mL dan kemudian tambahkan larutan penyangga AE sebanyak 60 μ L.
- Tabung kemudian diinkubasi dalam suhu ruangan selama 5 menit dan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit.
- Tabung kemudian disimpan dalam lemari pendingin bersuhu -20° Celcius.

Pemeriksaan Konsentrasi DNA Mikrobiota

Alat yang digunakan

- Alat nanodrop merek *Termo BMS ND 2000*
- Pipet mikro ukuran 10 μ L
- Komputer
- Alat pemutar (*spinner*) merek *Bio-Rad*
- Konsentrat DNA dari feses

Prosedur

- Alat yang digunakan adalah Nanodrop *Termo BMS ND 2000*
- Alat nanodrop diblanko terlebih dahulu dengan larutan penyangga AE.
- Sebanyak 2 μ L sampel yang akan diperiksa ditetaskan pada bagian puting alat.
- Nilai yang terlihat pada layar monitor dicatat.
- Pemeriksaan dilakukan sebanyak 3 kali (Triplo) untuk masing-masing sampel.
- Dilakukan pencatatan terhadap nilai yang terlihat pada kolom 260 A dan 260/280 A dicatat.

Pemeriksaan Bakteri Standar (ATCC)

- 1. Bakteri standar (ATCC) dikultur**
- 2. Penghitungan jumlah bakteri standar hasil kultur (3 Counting chamber)**
- 3. Pembuatan Alequot (Mixing)**

Alat yang Digunakan

- *Tube* untuk rPCR
- Alat pemutar

Prosedur

- Masukkan ke dalam *tube* PCR 11,9 μL larutan *distilled water* (DW) dan 2,1 μL bakteri standar ATCC
- *Tube* kemudian diputar (*spin*) selama 15 detik
- Kemudian ditambahkan 35 μL SSD Evagreen supermix.
- *Tube* diputar (*spin*) selama 15 detik
- Kemudian dimasukkan konsentrat ke dalam 5 *tube* PCR baru yang sudah ditandai dengan tulisan 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , dan 1 *tube non template control* (NTC). Masing-masing *tube* mengandung 7 μL konsentrat.
- Lakukan pemutaran (*spinning*) terhadap ke 6 *tube* PCR selama 15 detik.

4. Proses Ekstraksi Bakteri Standar

- Lakukan pengenceran terhadap bakteri standar (10^8) sebanyak 4 kali untuk mendapatkan konsentrasi 10^7 , 10^6 , 10^5 , dan 10^4 .
- Dari masing-masing *tube* diambil 0,3 μL konsentrat dan dimasukkan ke dalam *tube* alequot yang sudah mengandung 7 μL konsentrat.
- Ke dalam *tube* NTC dimasukan 3 μL DW.
- Kemudian dilakukan pemutaran (*spinning*) terhadap seluruh *tube* selama 15 detik.

5. Proses Pembuatan Kurva Standar dengan alat rPCR

- Alat rPCR dihidupkan
- Dilakukan penyesuaian terhadap alat rPCR
- 6 *tube* yang mengandung konsentrat dimasukkan ke dalam alat rPCR
- 5 *tube* konsentrat yang mengandung bakteri diposisikan dalam 1 kolom mulai dari konsentrasi 10^4 sampai 10^8 .

- *Tube* NTC diposisikan di kolom kedua tepat di sebelah *tube* yang ditandai 10^4 .
- Alat dijalankan dan kurva standar (*melting curve*) yang terlihat pada monitor dibaca

Proses Pemeriksaan Sampel Feses dengan rPCR

Alat yang digunakan

- Alat PCR merek *Multicolor Real-time PCR IQ5 Detection system Bio Rad*
- 1 set komputer

Bahan yang digunakan rPCR :

- Bakteri primer *Bifidobacterium bifidum* (ATCC 11863)
- Bakteri primer *Lactobacillus* (ATCC 393)
- Bakteri primer *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213)
- Sampel DNA feses
- Larutan alkohol 70%
- Masker
- Sarung tangan lateks
- *Primer mix Bifidobacterium forward dan reverse* 10 μ M
- *Primer mix Lactobacillus forward dan reverse* 10 μ M
- *Primer mix Staphylococcus forward dan reverse* 10 μ M

Prosedur

Perangkat komputer disiapkan dan dihubungkan dengan alat *Multicolor Real-time PCR IQ5 Detection system Bio Rad*. Ke enam *tube* yang mengandung konsentrat bakteri standar dimasukkan ke dalam alat. Lima buah *tube* diposisikan dalam 1 kolom, berurutan dari atas ke bawah, diawali dengan konsentrasi terkecil (10^4). *Tube* NTC diposisikan tepat di samping dengan konsentrat 10^4 . Tabung sampel feses diposisikan di kolom di samping tabung NTC.

Proses pemeriksaan disebut sebagai 1 siklus *real-time* yang terdiri atas tiga tahap yaitu, proses denaturasi, proses penempelan primer (*annealing*), dan reaksi polimerisasi (*extension*). Pada proses denaturasi, terjadi pemisahan untai ganda DNA sehingga terdapat 2 untai tunggal. Proses denaturasi berlangsung sebanyak 1 siklus pada suhu 98°C selama 2 menit. Pada tahap penempelan bakteri primer (*annealing*), primer akan berjalan menuju tempat yang spesifik yang

berkomplemen dengan urutan basa pada primer. Proses *annealing* berbeda-beda untuk masing-masing mikrobiota yang diukur. Untuk *Bifidobacterium* suhu *annealing* adalah 55°C, untuk *Lactobacillus* adalah 62°C dan untuk *Staphylococcus* adalah 60°C. Proses *annealing* berlangsung 1 siklus pada suhu tinggi (98°C). Proses *extension* berlangsung dalam 40 siklus pada suhu 55°C selama 30 detik. Hasil proses *extension* terlihat sebagai satu kurva yang akan dijadikan sebagai kurva standar ($r = 0,98 - 1$).

Untuk memastikan jumlah mikrobiota, dilakukan uji kuantifikasi sebanyak 2 kali (duplo). Jumlah bakteri pada sampel feses dibandingkan dengan jumlah bakteri yang berasal dari bakteri standar. Proses perbandingan berlangsung secara otomatis pada alat *Multicolor Real-time PCR IQ5 Detection system Bio Rad*.

Lampiran 3
Kaji Etik



**Komite Etik Penelitian Kesehatan
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo**
*Health Research Ethics Committee
Faculty of Medicine Universitas Indonesia
Cipto Mangunkusumo Hospital*
Jalan Salemba Raya No. 6, Jakarta Pusat 10430. Telp. 021-3157008. E-mail: ec_fkui@yahoo.com



Nomor ~~859~~ /UN2.F1/ETIK/2014

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the research protocol entitled:

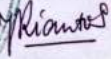
"Peran Gizi, Maternal Factors dan Pelayanan Kesehatan pada Fetal Programming terhadap Komposisi Mikrobiota dan Berat Badan Lahir: Studi Kohort di Jakarta".

Peneliti Utama : Dr. dr. Fiastuti Witjaksono, M.Sc, MS, SpGK
Principal Investigator

Nama Institusi : Ilmu Gizi FKUI/RSCM
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut di atas.
and approved the above mentioned protocol.



0 8 DEC 2014
Ketua
Chairman

Prof. Dr. dr. Rianto Setiabudy, SpFK

* *Ethical approval* berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan.
** Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian.
2. Memberitahukan status penelitian apabila
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical approval* harus diperpanjang.
 - b. Penelitian berhenti di tengah jalan.
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*).
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*.

Universitas Indonesia67

Lampiran 4

Tabel Asupan Zat Gizi Subjek

ID	energy (kcal)	water (g)	protein (g)	fat (g)	carbohydrate (g)
01UI01	1656.21	41.03	40.57	29.42	305.32
01UI06	1181.4	24.92	50.46	43.71	150.3
02UI06	1014.07	33.59	40.44	28.09	154.2
02UI07	2578.18	169.21	115.34	96.79	332.46
02UI10	2529.66	132.28	83.57	64.39	404.24
02UI15	2478.07	30.65	74.79	71.73	375.52
02UI18	1461.29	63.62	47.92	46.94	211.19
02UI25	1816.25	122.96	64.97	59.96	257.14
03UI01	1997.43	164.14	68.39	62.93	283.28
03UI06	2698.34	148.82	108.54	81.88	376.59
03UI13	3302.61	128.44	111.05	99.46	457.34
04UI01	2135.42	56.09	66.59	55.44	338.37
04UI02	1744.9	72.22	59.35	47.43	265.57
04UI06	2110.12	81.17	46.84	68.6	320.28
04UI08	2594.33	148.82	97.22	90.69	363.71
04UI17	3988.51	125.25	128.68	145.2	541.87
04UI18	1511.84	77.26	52.02	45.69	221.03
04UI19	2772.52	82.09	56.92	81.01	482.84
04UI20	2662.39	114.77	115.88	98.55	334.37
04UI22	1921.09	27.94	54.86	65.34	299.29
04UI23	2338.53	95.37	80.27	82.22	318.97
04UI24	1973.92	138.36	68.75	67.44	281.83
04UI27	1390.27	41.12	36.97	55.56	185.05
04UI29	2796.61	81.23	84.96	83.26	421.92
04UI32	3622.52	140.56	134.04	119.1	488.24
05UI01	4074.34	283.1	157.89	176.24	491.48
05UI03	2541.96	42.43	81.31	84.26	367.25
05UI08	3302.18	154.19	93.22	95.67	516.63
07UI05	2216.39	10.36	75.34	59.6	345.1
07UI06	2578.38	24.86	61.58	120.72	309.81
07UI18	1440.44	25.89	45.5	50.4	227.95
07UI19	4954.17	226.43	157.11	197.96	646.88
07UI20	2670.28	172.49	75.23	90.9	385.67
07UI21	2211.34	24.68	65.5	48.41	375.5
08UI07	2816.12	187.82	105.7	132.34	265.38
08UI10	2289.61	39.88	66.88	62.47	356.22
08UI11	4828.24	190.43	171.65	185.35	549.12
08UI12	1044.11	114.51	41.95	32.81	151.7
08UI18	1870.73	122.88	49.78	61.07	279.01
08UI35	3426.65	117.4	105.54	109.67	508.95
09UI02	766.47	33.07	17.59	37.72	90.67
09UI05	839.31	55.03	35.99	31.16	102.35
09UI07	2685.07	44.73	65.38	82.99	418.5
09UI10	3441.21	242.62	135.66	145.02	401.48
09UI14	4380.08	134.1	134.29	141.66	640.52
09UI17	2887.26	74.87	103.21	117.62	359.88
10UI01	1333.11	50.33	35	22.2	245.24
10UI02	2101.4	116.62	85.51	64.79	283.64
10UI03	2776.05	116.55	94.82	73.87	435.43
10UI04	2112.42	56.83	60.77	51.89	344

Manuscript

Correlation between Gut Microbiota and Dietary Intakes of Pregnant Mothers in third semester with Birth Weight: a Preliminary Study

Alexander Halim Santoso¹, Inge Permadhi¹, Agus Firmansyah²

1. Department of Nutrition, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia, Salemba Raya no. 6, Jakarta 10430, Indonesia
2. Department of Pediatric Medicine, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia, Salemba Raya no. 6, Jakarta 10430, Indonesia

E-mail : dr.alexsantoso@gmail.com

Abstract

Baby birth weight is one epidemiological variables associated with mortality in the first year of life. WHO reported there were 20 million babies born each year with low birth weight (LBW). In addition, full-term babies but large for gestational (LGA) is also at risk for obesity and other degenerative diseases in adulthood. Microbiota is a group of microorganism coexist with its host. It was suspected that there is a role of the microbiota on infant birth weight. This study is part of the research in department of nutrition, faculty of medicine, university of Indonesia that aims to see the correlation between the composition of microbiota of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Staphylococcus* in third semester pregnant women with low and normal infant birth weight in East Jakarta. This study is a cross-sectional study conducted in 10 district health centers throughout East Jakarta in February to April 2015. Of the 315 subjects enrolled, 52 subjects could be analysis. Subjects were measured for body weight (BW), height, food intake interviews, fecal sample measurement and birth weight measurement. Statistical analysis using One-way Anova for normal distribution data, Kruskal-Wallis for abnormal distribution data, and Pearson correlation. Characteristic of the subjects showed that most of the subjects has middle to lower education level and revenue under minimal wage (59,6%). More than half did not receive adequate energy intake per day, and 50% subjects were categorized as overweight to obese. There was no significant difference between maternal nutritional status in first semester of pregnancy with composition of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Staphylococcus*. The correlation between *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and birth weight is weak and not significant

Keywords: Microbiota, nutritional intake, bifidobacterium, lactobacillus, staphylococcus

Baby's weight is one of the variables that are closely related epidemiological risk of mortality in the first year of life, the issue of child development and various diseases in the future dewasa.¹ Many babies who died in the first year of life due to low birth weight (LBW). The lower the birth weight, the greater the chance for hidup.⁸⁰ On the other hand, babies born at term but with a body weight greater gestational age (LGA) is also at risk of suffering from obesity and degenerative diseases at the age of dewasa.⁴

Birth weight babies are influenced by many factors, among them the nutrient intake ibu.⁵ Optimal nutrition intake in pregnant women is beneficial to support the development and growth of the fetus. Nutrient intake is closely linked to the nutritional status of the mother. Poor nutritional status of mothers before pregnancy and during pregnancy the risk of causing the baby is born with low birth weight babies while pregnant women who are obese at risk of having a baby with a big future kehamilan.^{5,6} In addition to the nutrition and maternal nutritional status, maternal weight gain during pregnancy is also an important factor that determines the outcome baby. Pregnant women with less weight gain during pregnancy have a higher risk for premature delivery than mothers with increased normal.⁷

Microbiota is a collection of microorganisms coexist with inangnya.⁸ There are about 1014 microbiota in the human body and most commonly found in the gastrointestinal tract. Adult human gastrointestinal tract is dominated by Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria.⁹ process mikrobiota.¹⁰ suspected pregnancy alters the composition of the microbiota role for birth weight infants, ¹¹ but this role has not been widely studied. no studies in Indonesia, which examines the relationship between the gut microbiota third trimester pregnant women with birth weight infants so that it becomes the basis of this study. This study aims to look at the correlation between the amount of microbiota and nutrient intake on birth weight infants.

Methodology

Study design

The study design used is cross sectional study. The study was conducted in 10 district health centers in East Jakarta from February to April 2015. After going through the selection process, obtained 52 subjects pregnant women who fit the criteria of exclusion. The next subject was given an explanation of the study, and subjects who are willing to follow the study requested signed informed consent. Furthermore, subjects were interviewed to obtain demographic data, the data nutrient intake obtained by using semi Quantitative food frequency questionaere (SQFFQ). Anthropometric measurements performed to obtain the data of weight and height the third trimester. Subjects were then given a pot to collect feces. Once the subject of giving birth, babies born weighed. This study is part of the research department of the faculty of medicine nutritional already obtained approval from the ethics committee of the Faculty of Medicine, University of Indonesia (number 859 / UN2.F1 / ETHICS / 2014).

Subjects

The inclusion criteria for the subjects in this study is is the third trimester pregnant women, aged 19-44 years, and run antenatal care (ANC) in district health centers in East Jakarta. There are 10 district health centers in East Jakarta who became the

center of research. Pregnant women who smoke, suffer from HIV disease, and use of antibiotics is not included in this study. Twins and infants with congenital abnormalities are also excluded in this study.

Methodology for Nutrition Intake

Enumerators who are trained in the field of nutrition interviewing the subject at the time of the ANC in district health centers. The interview lasted 1 time. In an interview used guidebook that contains photos and size of the food in household size and weight to make sure the type of food consumed.

Anthropometry

After the interview on nutrient intake, the subjects subsequently measured weight and height by enumerators. Body weight was measured by using the tool scales SECA brands for pregnant women, while the subject's height was measured using shorrboard. Before re-calibrated measurement tools. Each measurement is done 2 times and the value taken is the average value.

The next subject was given an explanation how to collect stool samples and supplied equipment to collect feces.

Measurement birth weight infants performed after childbirth subject. Babies weighing is done by using the Serenity brand baby scales that have been calibrated. Baby weighing done twice, and the value taken is the average value.

Analysis of microbiota with rPCR

Prior to the analysis of faecal samples, 200 mg feces was weighed, dissolved and homogenized. Extraction of DNA derived from faecal samples and pure cultures microbiota done using the QIAamp DNA stool mini kit (Qiagen) following the manufacturer's instructions.

The concentration of DNA was determined with a Nanodrop Termo BMS ND 2000 (Nanodrop, Wilmington, DE, USA). For characterization of fecal microbiotas, PCR primers were used to target the Bifidobacterium genus (using ATCC 11863 specific for Bifidobacterium), Lactobacillus genus (ATCC 393 specific for Lactobacillus) and Staphylococcus (using ATCC 29213 specific for Staphylococcus). Detection was performed by using the Multicolor Real-time PCR IQ5 Detection system Bio Rad.

Statistical Analysis

Interviewed and measured data were compiled using specific forms, then checked, coded and entered into spreadsheets using SPSS version 20, SPSS Inc., Chicago, Illinois. Null hypothesis to be tested that there were correlation between gut microbiota and nutritional intake towards birth weight. Mean and standard deviation was used for normal distribution variables, while Median and minimum-maximum was used for non normal distribution variables. Kolmogorov-Smirnov test was used to see the normality of the variables. Pearson and Spearman test were used to determine the association between nutritional intake and birth weight.

Raw bacterial count were used for calculation. Microbial data at third trimester was used to see if there was a difference between weight group (underweight compared with normal weight compared with overweight and obese group) and body weight increment during pregnancy group (less, normal, and over). The association

between microbial counts and birth weight was analyzed by using Spearman correlation. A P value of < 0,05 was considered statistically significant.

Results

The demographic data is presented at Fig. 1. Fifty two subjects who meets the inclusion criteria were enrolled in the study. Mean age of the subjects was 28.98 ± 5.83 years old. 82.7% of subjects have middle to lower degree in education, and 59.6% have lower income according to minimal income of Jakarta province. 82.7% has inadequate energy intake, and lower carbohydrate, protein and fat intake as well (75%, 73.1% and 48,1% respectively). 46.2% has normal BMI while 36.6% has over to obese BMI. 55.8% has lower body weight increase during pregnancy according to Institute of Medicine classification.⁸¹ All of the babies born have normal body weight.

Table 1. Demographic characteristics of subjects

Pregnant Mothers Charateristic	Value	n (%)
Age (years)	$28,98 \pm 5,83$	
Education		
1. Very Low		4 (7,7%)
2. Low		17 (32,7%)
3. Middle		26 (50%)
4. High		5 (9,6%)
Income (Rp)	2500.000 (500.000 – 22.000000)	
1. Lower than UMP		31 (59,6%)
2. Higher than UMP		21 (40,4%)
Energy Intake (kcal/hari)	$2446,94 \pm 952,55$	
1. Low		43 (82,7%)
2. Normal		2 (3,8%)
3. High		7 (13,5%)
Macronutrients intake		
Carbohydrate (g/day)	$282,12 \pm 111,7$	
Ratio carbohydrate/energy intake (%)		46%
Fat (g/day)	$76,25 \pm 32,7$	
Ratio fat/energy intake (%)		29%
Protein (g/day)	$66,75 \pm 27,5$	
Ratio protein/energy intake (%)		11%
BMI before pregnancy (kg/m ²)	23,28 (15,93-34,13)	
1. Under		0 (0%)
2. Normal		14 (26,9%)
3. Over		25 (48,1%)
4. Obese		13 (25%)
	$9,55 \pm 4,74$	
Body weight increament during pregnancy (kg)		

1. Low	29 (55,8%)
2. Normal	16 (30,8%)
3. High	7 (13,5%)

Correlation of nutritional intake and birth weight

Further analysis showed no correlation was observed between nutritional intake and birth weight. (Table 2).

Table 2. Correlation of nutritional intake of third trimester pregnant mothers and birth weight

Nutritional Intake	Birth weight	
	r	p
Energy	0,035	0,804
Carbohydrate	0,01	0,09
Protein	0,20	0,164
Fat	0,082	0,572

Correlation of gut microbiota and birth weight

Table 3 showed higher *Bifidobacterium* count was found in normal BMI subjects compared to over to obese BMI subjects and low BMI but not significant (2.84×10^7 vs. 2.55×10^7 vs. 7.53×10^6 , $p > 0,05$), while higher *Lactobacillus* and *Staphylococcus* count were found in over to obese BMI subjects.

Table 3. Gut microbiota of third trimester pregnant mothers over mothers BMI

Microbiota	BMI of mothers at 1 st Trimester		p
	Normal (n=14)	Over-Obese (n=38)	
Bifidobacterium (Log cells/200 mg)	7,17 ± 0,68	7,13 ± 0,96	0,695
Lactobacillus (Log cells/200 mg)	10,72 ± 1,41	10,59 ± 1,19	0,188
Staphylococcus (cells/200 mg)	1224,07 ± 668,18	1641,06 ± 127,40	0,841

Table 4 showed there are no correlation of gut microbiota of third trimester pregnant mothers and birth weight.

Table 4. Gut microbiota of third trimester pregnant mothers over birth weight

Bacterial count	Birth weight
-----------------	--------------

	r	p
<i>Bifidobacterium</i>	0,134	0,344
<i>Lactobacillus</i>	-0,118	0,406
<i>Staphylococcus</i>	0,43	0,762

Discussion

Our result show that there are no correlation of gut microbiota and nutritional intake and birth weight. More than half (82.7%) of the subjects are classified as low energy with mean energy intake $2446,94 \pm 952,55$ kcal per day, based on classification by Indonesian RDI for third trimester pregnant mothers.⁸² According to Riskesdas 2013, 70% of total energy should be consumed by pregnant mothers, which is 1750 kcal per day. Based on that recommendation, there are no difference of energy intake and body weight increment. This result is not in agreement with Rukmana⁶⁹ who found a correlation between energy intake and upper arm circumference. Upper arm circumference (UAC) is the gold standard for measurement of pregnant mother nutritional status. In this study, measurement by UAC was not conducted.

In this study, the ratio of macronutrients intake of carbohydrate : fat : protein is 60% : 29% : 11%. This result is in accordance with macronutrients intake by Indonesian RDI 2013, carbohydrate : fat : protein (58% : 30% : 12%) which is a ratio for healthy adult. Protein intake was low in this study (66 gram per day) while Indonesian RDI stated that the requirement of protein for pregnant woman is 76 gram per day. Protein intake is an important factor for pregnant mothers and poor outcome of babies, like low birth weight.⁶

According to BMI classification by Asia Pacific, there are 26.9% subjects with normal BMI and 71% subjects with over to obese BMI. This result is not in agreement with Riskesdas 2013 which stated 55.85% adult people in Jakarta has normal BMI and 34.87% has over to obese BMI. This difference may be due to the subjects being measured here are pregnant mothers.

More than half of subjects has increment of body weight in this study is categorized as low according to IOM⁸¹ with mean increment 9.55 ± 4.74 kg. This increase is in accordance with WHO recommendation for developing countries, 5-9 kg during pregnancy. Since 73% of subjects in this study is classified as over to obese, the increment of body weight is subject to 5-7 kg.⁴⁶

In this study, number of bifidobacterium was found higher in subjects with normal BMI compared to over to obese subjects. On the contrary, staphylococcus was found in over to obese BMI group compared to normal BMI group. This result is in agreement with Collado et al.¹² and Santacruz et al.¹¹ Changes of bacteria counts may be due to dysbiosis and changes of microbiota during pregnancy.¹⁰

In this study, there are no correlation of bacteria counts and birth weight. This may due to other factors that influences birth weight such as genetic, nutritional intake⁴⁴⁻⁴⁶, nutritional status of mother^{53,77} and smoking^{78,79}.

Some limitation of this study are not enough resources to monitor the study. Using FFQ may result in recall bias, and interviewer bias in collecting nutrition intake. We suggest that a cohort study should be performed to enable collection of nutritional intake and bacterial counts from the beginning of pregnancy, and a better

methodological. It is also necessary to socialize the importance of maintaining good nutritional status before and after pregnancy.

References

1. Wilcox AJ. On the importance-and the unimportance-of birthweight. *Int Epidemiol Assoc.* 2001;30:1233–41.
2. Joshi SM, Likhar S, Athavale A, Shukla U. Factors affecting birth weight: a study in a secondary level hospital in gas affected area of Bhopal. *Natl J Community Med.* 2013;4(4):570–3.
3. Sirimi N, Goulis DG. Obesity in pregnancy. *Hormones.* 2010;9(4):299–306.
4. Grieger JA, Clifton VL. A review of the impact of dietary intakes in human pregnancy on infant birthweight. *Nutrients.* 2015;7:153–78.
5. Rasmussen KM, Yaktine AL. Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines. *Inst Med Natl Res Counc.* 2009;
6. Kementerian Kesehatan. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia nomor 75 tahun 2013 tentang angka kecukupan gizi yang dianjurkan bagi bangsa Indonesia. Kementerian Kesehat. 2013;
7. Rukmana SC. Hubungan asupan gizi dan status gizi ibu hamil trimester III dengan berat badan lahir bayi di wilayah kerja Puskesmas Suruh. Semarang; 2013.
8. Nucci LB, Schmidt MI, Duncan BB, Fuchs SC, Fleck ET, Britto MMS. Nutritional status of pregnant women: prevalence and associated pregnancy outcomes. *Rev Saude Publica.* 2001;35(6):502–7.
9. Brown JE. *Nutrition during pregnancy.* Nutrition through the life cycle. 4th ed. USA: Cengage Wadsworth; 2011. p. 87–133.
10. Bernstein I, Mongeon J, Badger G, Solomon L, Heil S, Higgins S. Maternal smoking and its association with birth weight. *Obstet Gynecol.* 2005;106:986–91.
11. Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *Am J Clinical Nutr.* 2008;88:894–9.
12. Scott KP, Gratz SW, Sheridan PO, Flint HJ, Duncan SH. The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacol Res.* 2013;69:52–60.
13. Santacruz A, Colado MC, Garcia-Valdes L, Segura MT, Martin-Lagos JA, Anjos T, et al. Gut microbiota composition is associated with body weight,

- weight gain and biochemical parameters in pregnant women. *Br J Nutr.* 2010;104:85–92.
14. Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, Spor A, Laitinen K, Backhed HK, et al. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell.* 2012;150:470–80.
 15. Abu-Saad K, Fraser D. Maternal nutrition and birth outcomes. *Epidemiol Rev.* 2010;32:5–25.
 16. King JC, Butte NF, Chez RA, Haas JD, Kleinman JC, Kramer MS, et al. *Nutrition during Pregnancy.* Washington D.C.: The National Academies Press; 1990.
 17. Cnattingius S, Bergstrom R, Lipworth L, Kramer MS. Prepregnancy weight and the risk of adverse pregnancy outcomes. *New Engl J Med.* 1998;338(3):147–52.
 18. Zhangbin Y, Shuping H, Jingai Z, Xiaofan S, Chengbo J, Xirong G. Pre-pregnancy body mass index in relation to infant birth weight and offspring overweight/obesity: a systematic review and meta-analysis. *Plos One.* 2013;8(4):1–11.
 19. Brooke OG, Anderson HR, Bland JM, Peacock JL, Stewart CM. Effects on birth weight of smoking, alcohol, caffeine, socioeconomic factors, and psychosocial stress. *BMJ.* 1989;298:795–801.
 20. Ward C, Lewis S, Coleman T. Prevalance of maternal smoking and enviromental tobacco some exposure during pregnancy and impact on birth weight: retrospective study using Millennium Cohort. *BMC Public Health.* 2007;7(81):1–7.

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : dr. Alexander Halim Santoso
Tempat & tanggal lahir : Medan, 16 September 1970
Jenis kelamin : Laki-Laki
Agama : Katolik
Status : Tidak menikah
Alamat : Perum. Citra 2, D6/25, RT004/019, Pegadungan,
Kalideres, Jakarta Barat, 11830
Telepon : 0812 4564 5474
Email : dr.alexsantoso@gmail.com

Riwayat Pendidikan

2013 – sekarang : Magister Gizi Klinik Fakultas Kedokteran,
Universitas Indonesia
1988 – 1997 : Fakultas Kedokteran Universitas AtmaJaya Jakarta
1985 – 1988 : SMA Katolik St. Thomas 1, Medan
1982 – 1985 : SMP Katolik Budi Murni 3, Medan
1976 – 1985 : SD Katolik Budi Murni 3, Medan

Riwayat Pekerjaan

2011 – sekarang : Dokter Umum Lollikids Montessorri
2009 – 2010 : Head of Medical Nutrition Service (MNS) PT.
Nestle Indonesia, Jakarta
1999– 2009 : Medical Advisor, PT Otsuka Indonesia, Jakarta
1997- 2009 : Copy Editor, CV. EGC, Jakarta