

Efektifitas Asam Folat Dalam Mengurangi Efek Samping Terapi Kasus Toxoplasmosis Dilihat Dari Gambaran Histopatologi Sel Otak Fetus Mencit (Mus Musculus) Yang Diinfeksi Toxoplasma Gondii

**Andi Jayawardhana¹⁾, Fauziah Fitri Hernanto¹⁾, Heni Puspitasari²⁾, Mufasirin^{2),3)},
Lucia Tri Suwanti^{2),3)}**

¹⁾Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Merdeka Surabaya.

²⁾Kelompok Studi Toxoplasma, Institute of Tropical Disease, Universitas Airlangga, Indonesia

³⁾Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Indonesia

Email: andijayawardana@unmerbaya.ac.id¹⁾, zii.uchi25@gmail.com¹⁾, henipuspitasari@unair.ac.id²⁾,
mufasirin@fkh.unair.ac.id^{2),3)}, luciatrisuwanti@fkh.unair.ac.id^{2),3)}

ABSTRACT

Toxoplasmosis infection can cause abortus in pregnant women and can cause defects in the fetus. Transmission of toxoplasmosis can occur through the habit of consuming raw or half-cooked meat, cat feces, human-to-human transmission occurs from the mother to the fetus it contains or blood transfusions and organs infected with these parasites. Pregnant women also need folic acid, the presence of this nutrient has long been known to be important as a health preserver for all ages, especially for pregnant women because of its many benefits for babies in the womb, where one of the functions of folic acid is to prevent defects in newborns. In addition to these reasons, the treatment carried out in the case of Toxoplasmosis has so far had a teratogenic and even abortus effect on the fetus. Therefore, it is necessary to conduct preliminary research to see the extent of folic acid's ability to prevent defects in the fetus of experimental animals infected with toxoplasmosis judging by its histopathological picture. This research method is an experimental laboratory with post test only control group design to find out the extent of the picture of histopathology mice after disinfection toxoplasmosis and molecularly. The study subjects numbered 25 mice using simple random sampling, there were 5 treatments each consisting of 5 replays and using female mice (*Mus musculus*) as experimental animals. Treatment consists of group P0 (not infected), P1 (disinfection), P2 (administration of folic acid one day before infection), P3 (administration of folic acid in conjunction with infection) and P4 (administration of folic acid two days after infection), with a dose of folic acid administration of 1 ml containing 0.015 mg /tail and an infectious dose of 10 takizoit / tail, four days after the mice infection was sacrificed, then molecular examination was carried out after that also observation and calculation of necrosis index in the histopathology of the fetal brain mice using staining HE (Hemaxtocilin Eosin). on the HE examination showed the presence of necrosis cells in the treatment of P1, P2 and P3 and P4 while in P0 there was no damage to brain tissue. On the PCR examination showed that the treatment infected by *toxoplasma gondii* in the organ there was evidence of toxoplasmosis infection in

accordance with the positive control, while in the negative control treatment group that was only given aquades did not show any evidence of toxoplasmosis infection in the brain.

Keywords : toxoplasma gondii, toxoplasmosis therapy, brain histopathology, folic acid

ABSTRAK

Infeksi *Toxoplasmosis* dapat menyebabkan abortus pada ibu hamil serta dapat menimbulkan cacat pada janin. Transmisi *toxoplasmosis* dapat terjadi melalui kebiasaan mengkonsumsi daging mentah atau setengah matang, kotoran kucing, penularan dari manusia ke manusia terjadi dari ibu kepada janin yang dikandungnya atau transfusi darah dan organ tubuh yang terinfeksi parasit ini. Ibu hamil juga memerlukan asam folat, keberadaan nutrisi ini sudah sejak lama diketahui penting sebagai pemelihara kesehatan bagi semua usia, terutama bagi ibu hamil karena banyak manfaatnya untuk bayi dalam kandungan, dimana salah satu fungsi asam folat adalah mencegah kecacatan pada bayi yang baru lahir. Selain alasan tersebut pengobatan yang dilakukan pada kasus Toxoplasmosis selama ini memberikan efek teratogenik dan bahkan abortus pada janin. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian awal untuk melihat sejauh mana kemampuan asam folat mencegah kecacatan pada janin hewan coba yang diinfeksi toxoplasmosis dilihat dari gambaran histopatologinya. Metode penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan *post test only control group design* untuk mengetahui sejauh mana gambaran histopatologi mencit setelah diinfeksi toxoplasmosis dan secara molekuler. Subyek penelitian berjumlah 25 ekor mencit dengan menggunakan *simple random sampling*, terdapat 5 perlakuan masing-masing perlakuan terdiri dari 5 ulangan serta menggunakan mencit betina (*Mus musculus*) sebagai hewan coba. Perlakuan terdiri dari kelompok P0 (tidak diinfeksi), P1 (diinfeksi), P2 (pemberian asam folat satu hari sebelum infeksi), P3 (pemberian asam folat bersamaan dengan infeksi) dan P4 (pemberian asam folat dua hari setelah infeksi), dengan dosis pemberian asam folat sebesar 1 ml yang mengandung 0,015 mg/ekor dan dosis infeksi sebesar 10 takizoit/ekor, empat hari setelah infeksi mencit dikorbankan, kemudian dilakukan pemeriksaan secara molekuler setelah itu dilakukan juga pengamatan dan perhitungan indeks nekrosis pada histopatologi otak janin mencit menggunakan pewarnaan HE (*Hemaxtoclin Eosin*). Pada pemeriksaan HE menunjukkan adanya sel yang mengalami nekrosis pada perlakuan P1, P2 dan P3 serta P4 sedangkan pada P0 tidak terdapat kerusakan pada jaringan otak. Pada pemeriksaan PCR menunjukkan pada perlakuan yang diinfeksi oleh toxoplasma gondii pada organ tersebut terdapat bukti infeksi toxoplasmosis sesuai dengan control positifnya, sedangkan pada kelompok perlakuan control negative yang hanya diberikan aquades tidak menunjukkan adanya bukti infeksi toxoplasmosis pada otak.

Kata Kunci : toxoplasma gondii, toxoplasmosis therapy, otak histopathology, asam folat

1. PENDAHULUAN

Toxoplasma gondii adalah protozoa intraseluler yang bisa hidup di semua sel host. *Toxoplasma gondii* memiliki host definitif keluarga *Felidae*, sementara manusia dan hewan berdarah panas adalah inang perantara (Hokelek., 2009). Toksoplasmosis merupakan penyakit zoonosis yang dapat menyebabkan berbagai masalah bagi manusia dan hewan, terutama saat kehamilan. Infeksi ini dapat menyebabkan gangguan pada wanita terutama proses reproduksi dan mengakibatkan kecacatan

janin, kebutaan, kelahiran prematur, lahir mati, dan aborsi. Infeksi primer yang terjadi pada trimester pertama kehamilan menyebabkan janin menjadi terinfeksi secara transplasenta dan menderita kelainan bawaan, ini dapat menyebabkan kelahiran prematur untuk aborsi (Bayat et al., 2013). Infeksi primer pada wanita hamil, fase parasitemia yang akan terjadi pertama kali, maka darah ibu yang memasuki plasenta akan menginfeksi plasenta (plasentitis). Infeksi parasit dapat ditularkan ke janin secara vertikal. Takizoit akan berkembang biak dan menghasilkan fokus nekrotik yang menyebabkan nekrosis plasenta dan jaringan sekitarnya termasuk otak janin sehingga membahayakan janin yang berakibat kecacatan dan aborsi (Suparman, 2012). *Toxoplasma gondii* yang mencapai janin bisa menghambat asupan nutrisi, terutama asam folat dan asam amino dari induk ke anak sehingga bisa menjadi faktor penyebab rendahnya berat badan janin tikus (Sinar, 2016).

Hingga saat ini, terapi yang sudah dilakukan adalah dengan memberikan kombinasi obat-obatan dari sulfonamide dan pyrimethamine. Obat ini tidak boleh digunakan saat trimester pertama karena berpotensi teratogenik. Efek dari kedua obat tersebut menyebabkan leukopenia dan trombositopenia. Terapi ini menghasilkan depresi dosis terkait reversibel sumsum tulang dan karenanya harus dikombinasikan dengan asam folat. Kombinasi sulfonamid dan pirimetamin menghasilkan penurunan yang signifikan keparahan penyakit (Janvier, 2013). Selain kedua obat ini, ada spiramisin yang bisa digunakan dengan aman. Spiramisin memiliki toksisitas dan dosis efektif minimal yang dapat diserap oleh secara pemberian oral, menyebar dengan cepat ke jaringan untuk membunuh tachyzoite dan mengurangi parasit atau mencegah penyebaran parasit melalui plasenta ke janin (Wei et al., 2015). Spiramisin adalah antibiotik makrolida yang tidak mudah melewati plasenta, dan karenanya tidak dapat diandalkan untuk pengobatan infeksi janin. Spiramycin ditujukan mencegah transmisi vertikal parasit ke janin, dan itu diindikasikan hanya sebelum infeksi janin (Janvier, 2013).

2. METODE

Dalam penelitian ini penelitian ini menggunakan 20 tikus betina dan dibagi menjadi 4 kelompok dan setiap perlakuan memiliki 5 tikus betina. Perawatan dimulai pada hari ke – 13 kehamilan. Keempat perawatan itu adalah: Kelompok Kontrol Negatif Kelompok P0: 5 ekor tikus diberi perlakuan aquadest 0,5 ml / ekor / hari untuk terlihat gambaran histopatologi otak normal janin mencit. Kelompok Kontrol Positif, Kelompok P1: 5 tikus yang terinfeksi tachyzoites dari *T. gondii*

dengan dosis 5 sampai intraperitoneal dan diobati dengan aquadest 0,5 ml / ekor / hari untuk dilihat mengubah gambaran histopatologi otak janin mencit. Kelompok Perlakuan Dua Kelompok P2: 5 tikus terinfeksi tachyzoites dari *T. gondii* dengan dosis 5 sampai intraperitoneal dan diobati dengan Spiramycine 130 mg / kg tubuh berat / hari dan Asam Folat diberikan 0,052 µg / g berat badan / hari 5 hari terlihat perubahan gambaran histopatologi otak janin mencit. Kelompok Perlakuan Tiga, kelompok P3: 5 tikus yang terinfeksi tachyzoites dari *T. gondii* dengan dosis 5 sampai intraperitoneal dan diobati dengan Asam Folat 0,052 µg / g tubuh berat / hari diberikan selama 5 hari untuk melihat perubahan gambaran histopatologi otak janin mencit.

Ekstraksi DNA

Otak yang diperoleh dimasukkan ke dalam *microcentrifuge tube* 1,5 ml sebanyak 200 µl, kemudian dilakukan ekstraksi DNA menggunakan *DNA Extraction Kit*(Geneaid). Ekstraksi dilakukan dengan melakukan sonikasi terhadap otak yang sebelumnya sudah disentrifugasi. Sonikasi dilakukan sebanyak 5 x 30 detik dengan jeda satu menit. Otak yang telah disonikasi kemudian ditambahkan proteinase K sebanyak 20 µl dan enzim tripsin sebanyak 10 µl kemudian diinkubasi dalam *waterbath* dengan suhu 60°C *overnight* (12 jam). Selesai inkubasi sampel ditambahkan *GSB Buffer* sebanyak 200 µl dengan *absoluteethanol* sebanyak 200 µl kemudian dipindahkan dalam *GS column* yang dibawahnya sudah dipasang *collection tube* 2 ml, kemudian sampel disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama satu menit. Cairan dalam *collection tube* dibuang. Proses pencucian dilakukan dengan menambah *W1 buffer* sebanyak 400 µl, kemudian disentrifugasi lagi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 30 detik. Cairan dalam *collection tube* dibuang. Kemudian ditambah dengan *wash buffer* sebanyak 600 µl. kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 30 detik. Cairan dalam *collection tube* dibuang. Kemudian disentrifugasi lagi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 3 menit. Setelah itu dilusi dengan *pre-heated elution buffer* sebanyak 90 µl untuk mendapatkan DNA. Selanjutnya DNA diukur konsentrasinya dengan *spectrophotometer* Maestro Gendan disimpan pada suhu - 20°C.

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) dilakukan dalam 25 µl campuran yang terdiri dari 5 µl sampel DNA. Primer B1 *Forward* dan *Reverse*. Campuran PCR mengandung *master mix* (Bioline) 12,5 µl, primer *forward* 2 µl, primer *reverse* 2 µl, dan *nuclease free water* sebanyak 3,5 µl. Amplifikasi dilakukan dengan *setting* suhu predenaturasi pada 94°C 10 menit, dilanjutkan

denaturation 94°C 1 menit, *annealing* 60°C 15 detik, *extention* 72°C 45 detik sebanyak 40 siklus, dilanjutkan dengan *elongation* 72°C 7 menit.

Skor Inflamasi

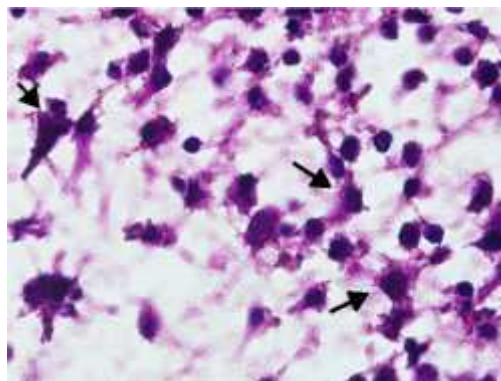
Masing-masing Tingkat inflamasi, peningkatan sel glia serta nekrosis pada sel neuron dinilai dengan skor 0 – 4 (ringan hingga paling berat) dengan rincian sebagai berikut :

| SKOR | PENILAIAN |
|------|---|
| 0 | Tidak terdapat perubahan |
| 1 | Perubahan 0-25 % dari seluruh Lapangan Pandang (LP) |
| 2 | Perubahan hingga 50 % dari seluruh Lapangan Pandang (LP) |
| 3 | Perubahan hingga 75 % dari seluruh Lapangan Pandang (LP) |
| 4 | Perubahan lebih dari 75% dari seluruh Lapangan Pandang (LP) |

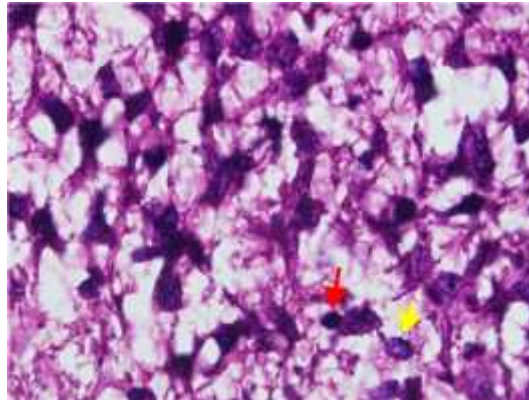
Sumber : Klopfleisch, 2013

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan dilakukan pada lapisan korteks cerebrum yang teramati dari seluruh lapangan pandang dengan pembesaran 400x . Pemeriksaan ini menggunakan mikroskop cahaya biasa merk *Nikon E100* yang dilengkapi dengan digital camera Optilab Advance Plus 12 megapixel dan *soft ware* pengolah gambar Image Raster



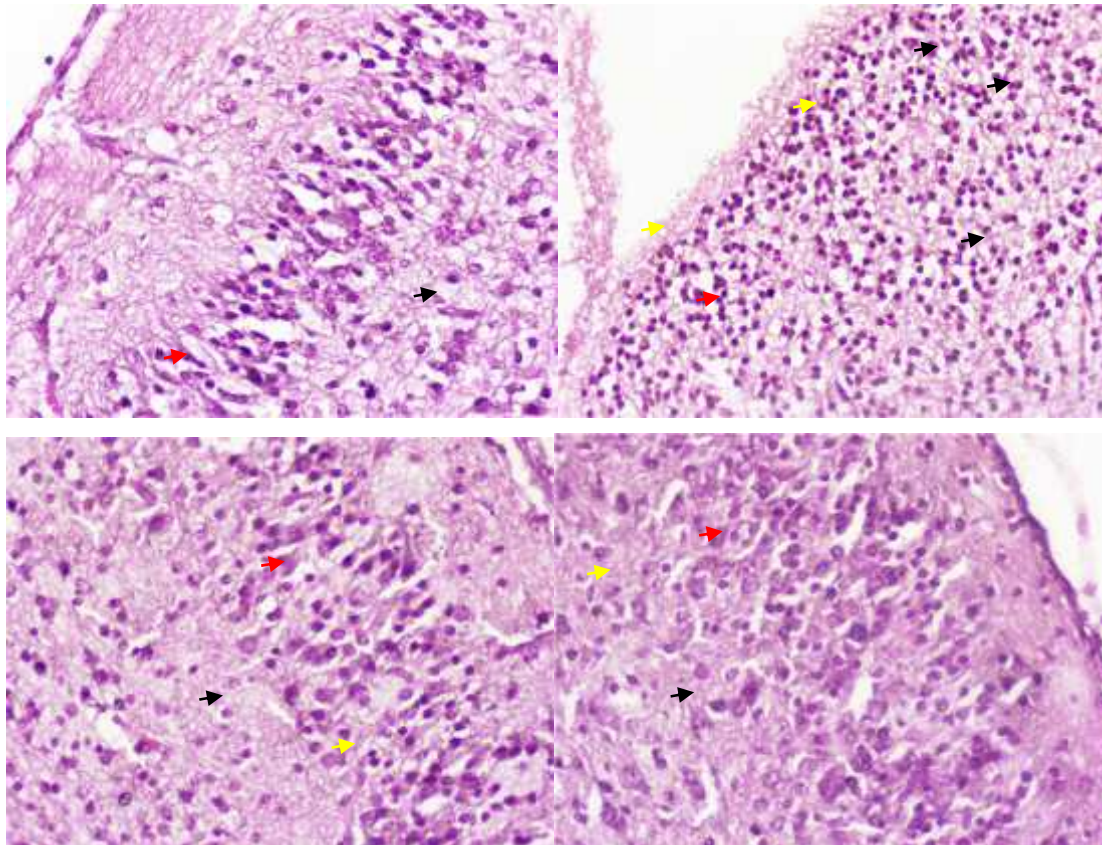
Gambar 1. Sel Bodi Neuron (Piramid) pada korteks cerebri. (HE. 1000x)



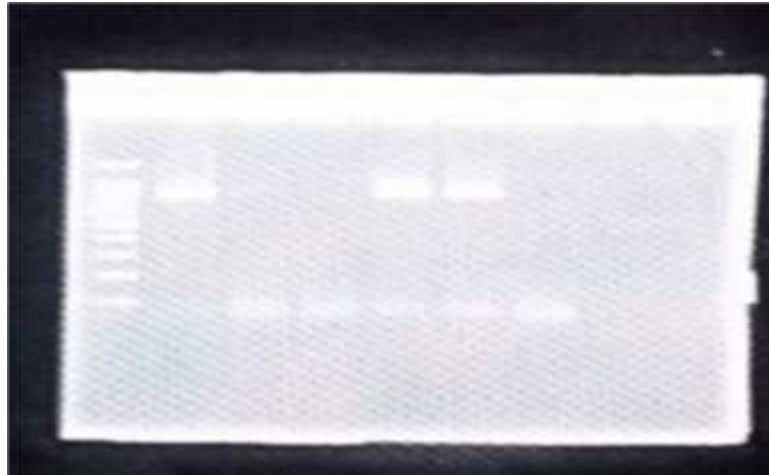
Gambar 2. Sel glia otak. Oligo Dendrosit(Merah), Astrosit P.(Kuning). (HE. 1000x)

| KODE | INFILTRASI NEUTROFIL | NEURON NEKROSIS | GLIOSIS | JUMLAH |
|----------|-------------------------|--------------------|---------|--------|
| T- 1 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| T- 2 | 0 | 1 | 1 | 2 |
| T- 3 | 0 | 1 | 1 | 2 |
| T- 4 | 1 | 1 | 2 | 4 |
| AF.1 | 2 | 2 | 2 | 6 |
| AF.2 | 3 | 2 | 3 | 8 |
| AF.3 | 2 | 1 | 1 | 4 |
| AF.4 | 2 | 1 | 3 | 6 |
| AF.5 | 3 | 1 | 3 | 7 |
| T+ 1 | 2 | 3 | 3 | 8 |
| T+ 2 | 4 | 4 | 3 | 12 |
| T+ 3 | 4 | 3 | 4 | 11 |
| Sp.TAF 1 | 1 | 2 | 3 | 6 |
| Sp.TAF 2 | 4 | 2 | 3 | 9 |
| Sp.TAF 3 | 2 | 2 | 2 | 6 |

| | | | | |
|----------|---|---|---|---|
| Sp.TAF 4 | 2 | 1 | 3 | 6 |
| Sp.TAF 5 | 2 | 2 | 2 | 6 |



Gambar 3. Perbandingan gambaran neutrofil (→), sel neuron (→) dan sel glia (→) pada korteks cerebrum otak tikus pada tiap kelompok. (Hematoxylin-eosin : 400x)



Gambar 4. Menunjukkan hasil pembacaan PCR pada organ yang diberikan perlakuan. Pada hasil pemeriksaan PCR menunjukkan pada perlakuan yang diinfeksi oleh *Toxoplasma gondii* pada organ tersebut terdapat bukti infeksi toxoplasmosis sesuai dengan control positifnya, sedangkan pada kelompok perlakuan control negative yang hanya diberikan aquades tidak menunjukkan adanya bukti infeksi toxoplasmosis.

4. KESIMPULAN

Diharapkan dengan adanya penelitian ini dapat menjadikan alternatif untuk pengobatan toxoplasmosis menjadi lebih bervariasi dan ke depannya menghasilkan sebuah produk.

DAFTAR PUSTAKA

- Anurogo, D. dan Ikrar, T., 2014. Vitiligo. Tangerang: Cermin Dunia Kedokteran 220 41(9): 666-675.
- Alberts, B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walter. 2002. *Molecular Biology of the Cell*. 4th Ed. Garland Science. New York.
- Bayat, P.D., Z. Eslamirad, and S. Shojaee. 2013. Toxoplasmosis: Experimental Vaginal Infection in NMRI Mice and Its Effect on Uterin, Placenta and Fetus Tissues. *Iran. Red. Cresc. Med. J.*, 15(7): 595-599.
- Castro, E. and Popek, E. 2018. Abnormalities of placenta implantation. *J. Parasitology, Microbiology and Immunology*. *APMIS* 126: 613-620.

- Chahaya, I., 2003. Epidemiologi “ *Toxoplasma Gondii* ”. Digital Library Universitas Sumatera Utara. Diambil dari: <http://library.usu.ac.id/download/fkm/fkm-indra%20c4.pdf>
- Craciunescu CN, Brown EC, Mar MH et al. (2004) Folic acid deficiency during late gestation decreases progenitor cell proliferation and increases apoptosis in fetal mouse brain. *J Nutr* 134, 162–166.
- Dubey, J. P. (2006). Comparative infectivity of oocysts and bradyzoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. *Vet. Parasitol.* 140, 69–75. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.03.018
- Dubey, J.P. and J.L. Jones. 2008. *Toxoplasma gondii* Infection in Humans and Animals in the United States. *Int. J. Parasitol.* 38(11): 1257-1278.
- Dubey, J.P. 2010. *Toxoplasmosis of Animals and Humans*. 2nd ed. CRC Press, Florida, USA.
- Dubey, J.P. 2008. The History of *Toxoplasma gondii*—The First 100 Years. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 55(6): 467–475.
- Dzierszinski, F., M. Nishi, L. Ouko, and S. Roos. 2004. Dynamics of *Toxoplasma gondii* Differentiation. *Eukaryot. Cell.*, 3(4): 992-1003.
- Eroschenko VP. 2003. Atlas Histologi di Fiore dengan Korelasi Fungsional Edisi 9. Alih Bahasa : Tambayong Jan. Jakarta: EGC
- Esch, K.J. and C.A. Petersen. 2013. Transmission and Epidemiology of Zoonotic Protozoal Diseases of Companion Animals. *Clinic. Microbio. Rev.*, 26(1): 58–85.
- Freppel, W., Ferguson, D. J. P., Shapiro, K., Dubey, J. P., Puech, P.- H., and Dumètre, A. (2019). Structure, composition, and roles of the *Toxoplasma gondii* oocyst and sporocyst walls. *Cell Surface* 5:100016. doi: 10.1016/j.tcs.2018.100016
- Fuentes, J.K. M. Rodrigues. C.J. Domingo, F. Del-Castilo, T. Juconsa, and J. Alvar. 1996. Urine Sample Used for Toxoplasmosis Diagnosis by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 34(10): 2386-2371
- Janvier, JogC. 2013. Toxoplasmosis in Pregnancy: Prevention, Screening, and Treatment. *J. Obstet. Gynaecol. Can.*, 35(1): 78–79.
- Jones, J., A. Lopez, and M. Wilson. 2003. Congenital Toxoplasmosis. *American Family Physician*, 67:10.
- Katalin, F, Berti, C, Trovato, M, Lohner S, Dullemeijer C, Souverein, O, Cetin I, Decsi, T. 2012. 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.* 11:75. doi: 10.1186/1475-2891-11-75

- Harsojuwono, B.A ; Arnata. W; Puspawati G. A. K. 2018 Rancangan Percobaan : Teori, Aplikasi SPSS dan Excel. Lintas Kata Publishing.
- Hill D, Dubey JP (2013) *Toxoplasma gondii* prevalence in farm animals in the United States. International Journal for Parasitology 43:107-113
- Hokelek. M (2009). Toxoplasmosis. Available at: <http://www.emedicine.medscape.com/article/229969>. Accessed: February 6, 2010
- Joshi, M., and J.D. Deshpande. 2011. Polymerase Chain Reaction: Methods, Principles and Application. Int. J. Biomedical Research. 2(1): 81-97
- Kumar, Vinay; Ramzi S. Cotran; Stanley L. Robbins. 2007. *Buku Ajar Patologi Robbins, Ed.7, Vol..* Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Khan, M. K and Jialal, M. 2020 Folic Acid (Folat) Deficiency, In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Lavine, M.D., and G. Arrizabalaga. 2008. Exit From Host Cells by The Pathogenic Parasitic *Toxoplasma gondii* Does Not Require Motility. Eukaryot. Cell. 7(1):131-140.
- Lestari, Ajeng S.P. dan Agus Mulyono. 2011. Analisis Citra Ginjal untuk Identifikasi Sel Piknosis dan Sel Nekrosis. Jurnal Neutrino Vol.4, No.1, p:48-66.
- Martinussen, M.P., M.B. Bracken, E.W. Triche, G.W. Jacobsen, and K.R. Risnes. 2015. Folic Acid Supplementation in Early Pregnancy and the Risk of Preeclampsia, Small for Gestational Age Offspring and Preterm delivery. Euro. J. Obste. Gyneco. Reprod. Bio. 195: 94–99.
- Morgan, O., P. Crook, T. Cheasty, B. Jiggle, I. Giraudon, H. Hughes, S. Jones, and H. Maguire. 2006. Perinatal Toxoplasmosis, Northern Taiwan. Emerging Infectious Diseases. 12(9): 1460-1461.
- Mortensen, J.H.S., N. Oyen, T. Fomina, M. Melbye, S. Tretli, S.E. Vollset, and T.Bjorge. 2015. Supplemental Folic Acid in Pregnancy and Maternal Cancer Risk. The International Journal of Cancer Epidemiology, Detection, and Prevention, 39: 805 – 811.
- Mufasirin. 2011. Mekanisme Berat Lahir Rendah Anak Mencit dari Induk Toksoplasmosis Melalui Perubahan Molekuler Sel Otot Skelet. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Nurchahyo W. 2001. Scientific Review of Toxoplasmosis in Humans and Animals. The Main Papers in National Seminars Toxoplasmosis in Humans and Animals: A Review of Medical, Clinical and Social in the Community. Gadjah Mada University, Yogyakarta, May 26, 2001

- Nurcahyo, W., J. Prastowo, dan A. Sahara. 2012. Molecular Detection of Toxoplasmosis Using Specific Primers P30, B1, and rDNA. *Jurnal Veteriner*. 13(1): 9-13.
- Nurcahyo, W. dan D. Priyowododo. 2019. Toksoplasmosis pada Hewan. Penerbit Samudra Biru. Yogyakarta.
- Priyambodo, S. 2003. Pengendalian Hama Tikus Terpadu Ed ke-3. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Rybicky, E.P. 1996. PCR Primer Design and Reaction Optimisation in Molecular Biology Techniques Manual. Coyne VE, James MD, Reid SJ, editor. Rybicki: Dept.of Microbiology, Univ. Cape Town.
- Nurcahyo, W. dan D. Priyowododo. 2019. Toksoplasmosis pada Hewan. Penerbit Samudra Biru. Yogyakarta.
- Robert-Gangneux, F., and Dardé, M.-L. (2012). Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 25, 264–296. doi: 10.1128/CMR.05013-11
- Sherwood, L. 2014. Fisiologi manusia : dari sel ke sistem. Edisi 8. Jakarta: EGC
- Suckow, M.A., Danneman, P. and Brayton, C. (2001). *The Laboratory Mouse*. CRC Press.
- Suparman, E. 2012. Toksoplasmosis dalam Kehamilan. Bagian Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi. *Jurnal Biomedik*, 4 (1): 13-19.
- Sinar. 2016. The Morphological Change of Mice Foetus (*Mus musculus*) From Parent who Infected by *Toxoplasma Gondii* Intravaginal. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Suwanti, L.T. 2005. Mekanisme Peningkatan Apoptosis Trofoblas Mencit Bunting Terinfeksi *Toxoplasma gondii* Melalui Peningkatan Sel Desidua Penghasil IFN- dan TNF- serta Trofoblas Penghasil FAS dan TNFR-1. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Suwanti, L.T. 2006. Respon Imun Seluler Plasenta Terhadap Infeksi *Toxoplasma gondii* pada Berbagai Umur Kebuntingan Mencit (*Mus musculus*). *Media Kedokteran Hewan*. 22(3): 168-173.
- Suwanti, L.T. 2009. Ekspresi Tumor Necrosis Factor Receptor (TNFR)1 di Trofoblas Mencit yang Diinfeksi *Toxoplasma gondii*. *Media Kedokteran Hewan*. 25(1): 17-22.
- Salomon. K; Barua. S; and Junaid A. M. 2014 Folic Acid Supplementation in Pregnancy and Implications in Health and Disease. *Journal of Biomedical Science* 21(1):77 · August 2014. DOI: 10.1186/s12929-014-0077-z

- Talaulikar, V. and S. Arulkumaran. 2013. Folic Acid in Pregnancy. *Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Medicine*, 23(9): 286-288.
- Unno A, Kachi S, Batanova TA, Ohno T, Elhawary N, Kitoh K, Takashima Y. *Toxoplasma gondii* tachyzoite-infected peripheral blood mononuclear cells are enriched in mouse lungs and liver. *Exp Parasitol*. 2013;134:160–164
- Van Zuthpen, B. 2007. Educational and training for the care and use of laboratory animals: an overview of current practices. *ILAR J* 48 (2) : 72-74.
- Wei, H.-X., et al., 2015. A systematic review and meta-analysis of the efficacy of anti-*Toxoplasma gondii* medicines in humans. *PLoS One* 10 (9).<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138204>
- Waree P (2008). *Toxoplasmosis pathogenesis and immune response*. *Thammasat Medical Journal*, 8: 487–95.