

## KADAR SERUM 8-HIDROKSI-2'-DEOKSIGUANOSIN LEBIH TINGGI PADA ABORTUS INKOMPLIT DIBANDINGKAN DENGAN KEHAMILAN NORMAL TRIMESTER I

Ni Made Suciani, I Gede Putu Surya, Ketut Suwiyoga

Bagian / SMF Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana /  
Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar Bali

### ABSTRAK

Abortus merupakan salah satu penyumbang kematian ibu akibat perdarahan yang ditimbulkan serta komplikasi lain yang bisa muncul adalah infeksi, infertilitas dan abortus berulang. Penanganan abortus sebagian besar terhadap komplikasi yang ditimbulkan bukan terhadap penyebabnya. Di Indonesia sampai saat ini belum pernah ditemukan penelitian tentang 8-hidroksi-2'-deoksiganosin (8-OHdG). Tingginya kadar 8-OHdG berhubungan dengan tingginya agresi radikal hidroksil dan atau rendahnya kecukupan antioksidan yang bisa menyebabkan kerusakan DNA atau kelainan kromosom. Kelainan kromosom merupakan salah satu penyebab terbesar abortus pada trimester I. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa kadar serum 8-OHdG pada abortus inkomplit lebih tinggi dibandingkan dengan kehamilan normal trimester I. Desain pada penelitian ini adalah studi *cross-sectional analytic* yang melibatkan 68 orang wanita yang dikelompokkan menjadi 34 orang dengan abortus inkomplit dan 34 orang wanita hamil normal umur kehamilan < 14 minggu yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang datang ke Rumah Sakit Umum Sanglah Denpasar. Dilakukan pemeriksaan kadar 8-OHdG serum pada kedua kelompok dengan metode ELISA. Berdasarkan uji *t-independent* didapatkan perbedaan yang signifikan ( $P=0,001$ ) antara kadar 8-OHdG serum antara kelompok abortus inkomplit (5,00 ng/ml) dengan kelompok hamil normal (3,03 ng/ml). Beda rerata kedua kelompok adalah 1,97 (IK95% 1,38 sampai 2,56). Dalam hal umur ibu, umur kehamilan dan paritas tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok. Berdasarkan kurva ROC diperoleh nilai *cut of point* 3,73 ng/ml. Dengan uji *Chi-Square* rasio prevalensi adalah 8,66 (RP=8,66 IK95%=2,93 sampai 25,62  $P=0,001$ ). Kadar serum 8-OHdG secara bermakna lebih tinggi pada kelompok abortus inkomplit dibandingkan dengan kelompok hamil normal. Pada kadar 8-OHdG yang tinggi kejadian abortus inkomplit adalah 8,7 kali lebih banyak dibandingkan hamil normal. [MEDICINA 2015;46:99-103].

**Kata kunci:** abortus inkomplit, kadar 8-OHdG serum

## EIGHT HYDROXY-2'-DEOXYGUANOSINE SERUM LEVEL IN INCOMPLETE ABORTION IS HIGHER THAN FIRST TRIMESTER NORMAL PREGNANCY

Ni Made Suciani, I Gede Putu Surya, Ketut Suwiyoga

Department of Obstetric and Gynecology, Udayana University Medical School /  
Sanglah Hospital Denpasar Bali

### ABSTRACT

Miscarriage or abortion is one contributor to maternal mortality due to bleeding caused as well as other complications can arise are infection, infertility and recurrent miscarriage. Handling most of the complications is not against the cause. In Indonesia until now has not been found research on eight hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG). High level of this compounds is associated with high aggression of hydroxyl radicals or low of antioxidant adequacy can cause DNA damage or chromosomal abnormalities. Chromosomal abnormalities are the biggest cause of abortion in the first trimester. The purpose of this research was to prove that 8-OHdG serum level in incomplete abortion was higher than first trimester normal pregnancy. The design of this research was cross-sectional analytic study involving 68 women, grouped into 34 women with Incomplete Abortion and 34 women with normal pregnancy less or equal than 14 weeks which meet the criteria of inclusion and exclusion that came to the Sanglah Hospital Denpasar. Blood serum examination was conducted to know the 8-OHdG levels on both groups by the method of ELISA. Based on *t-independent* test, there were significant differences ( $P=0.001$ ) between 8-OHdG serum level in incomplete abortion (5.00 ng/ml) and normal pregnancy (3.03 ng/mL) with mean difference was 1.97 (CI95% 1.38 to 2.56). In terms of mother's age, pregnancy's age and the parity, there were no significant differences between groups. Based on ROC curve, cut of point of 8-OHdG serum level was 3.73 ng/ml. From *Chi-Square* test, prevalence ratio was 8.66 (RP=8.66 CI95%=2.93 to 25.62  $P=0.001$ ). The serum level of 8-OHdG was significantly higher in incomplete abortion group compared to normal pregnancy. In the 8-OHdG serum levels were high, the incidence of incomplete abortion was 8.7 times larger compared to normal pregnancy. [MEDICINA 2015; 46:99-103].

**Keywords:** incomplete abortion, 8-OHdG serum level

## PENDAHULUAN

Abortus adalah berakhirnya kehamilan sebelum janin mampu bertahan hidup atau beratnya kurang dari 500 gram.<sup>1</sup> Diperkirakan 30-50% hasil konsepsi akan mengalami abortus dan 10-12% bisa diketahui secara klinis.<sup>2</sup> Abortus yang paling sering dijumpai di rumah sakit adalah abortus inkomplit. Ada beberapa penyebab dan faktor risiko abortus. Faktor kelainan kromosom menyumbang sekitar 75% dari penyebab abortus trimester I.<sup>1</sup> Salah satu faktor yang berperan terhadap kelainan kromosom adalah *reactive oxygen species* (ROS) yang mampu menyebabkan kerusakan seluler, seperti merusak DNA/RNA, protein dan lipid.<sup>3,4</sup> Radikal hidroksil adalah salah satu ROS yang dapat merusak DNA. Senyawa 8-hidroksi-2'-deoksi-guanosin (8-OHdG) yang merupakan salah satu ekspresi utama kerusakan DNA dapat diperiksa di dalam serum dengan metode ELISA. Kadar 8-OHdG yang tinggi berhubungan dengan tingginya agresi radikal hidroksil dan atau rendahnya kecukupan antioksidan.<sup>5</sup>

Beberapa peneliti menyatakan bahwa kelainan kromosom adalah penyebab langsung abortus spontan. Sebuah studi meta-analisis menemukan bahwa kelainan kromosom terjadi 49% dari abortus spontan. *Autosomal trisomy* adalah yang tersering sekitar 52% diikuti oleh *polyploidy* 21% dan *monosomy X* 13%.<sup>6,7</sup> Jumlah yang sebenarnya dari zigot yang abnormal tidak diketahui karena biasanya zigot ini akan hilang 2 sampai 3 minggu setelah fertilisasi sebelum wanita sadar kalau dirinya sedang hamil sehingga tidak terdeteksi.<sup>8,9</sup> Disebutkan bahwa paparan stres oksidatif sebelum meningkatkan terbentuknya zigot yang abnormal.<sup>10</sup> Pada sistem reproduksi wanita, ROS dan antioksidan mempunyai peran

fisiologi selama folikulogenesis, maturasi oosit, regresi luteal, dan fertilisasi.<sup>11</sup> 8-hidroksi-2'-deoksi-guanosin ini tidak hanya sebagai marker stres oksidatif dalam sel granulosa selama proses ovulasi sehingga mempengaruhi fertilisasi tetapi juga mempengaruhi pertumbuhan embrio dan mengurangi kesuksesan implantasi.<sup>4</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa kadar serum 8-OHdG pada abortus inkomplit lebih tinggi dibandingkan dengan kehamilan normal trimester.

## BAHAN DAN METODE

Desain pada penelitian ini adalah studi *cross-sectional analytic*. Pada penelitian ini yang menjadi populasi adalah semua pasien yang didiagnosis sebagai abortus inkomplit dan hamil normal trimester I. Populasi terjangkau penelitian ini adalah semua pasien yang didiagnosis sebagai abortus inkomplit dan ibu hamil normal trimester I yang datang ke Poliklinik dan IRD Obstetri dan Ginekologi RSUP Sanglah Denpasar. Sampel ditentukan dengan cara *consecutive sampling* dari ibu hamil dengan abortus inkomplit yang datang ke poliklinik dan IRD Obstetri dan Ginekologi RSUP Sanglah Denpasar dari Nopember 2012 sampai dengan Mei 2013 yang memenuhi kriteria inklusi. Kriteria inklusi yaitu ibu hamil yang datang ke poliklinik dan IRD Obstetri dan Ginekologi RSUP Sanglah Denpasar yang didiagnosis abortus inkomplit dan ibu hamil normal trimester I. Kriteria eksklusi yaitu abortus provokatus, abortus inkomplit infeksius, dan menolak ikut penelitian.

Sampel dihitung dengan rumus Levy & Lemeshow dengan tingkat kesalahan tipe I ( $\alpha$ ) 0,05 dan tingkat kesalahan tipe II ( $\beta$ ) adalah 20%. Simpang baku ( $S=80,58$ ), rerata 8-OHdG pada kehamilan normal ( $X=179,97$ ) dan rerata 8-OHdG pada abortus

( $X_2=240$ ), ketiga nilai ini diambil dari penelitian sebelumnya. Power penelitian adalah 80% dengan interval kepercayaan 95%. Cadangan 20% dari besar sampel untuk mengantisipasi kerusakan sampel, sehingga besar sampel penelitian sebesar 68, masing-masing kelompok 34 sampel.

Pertama kali akan dilakukan penapisan pada ibu hamil normal dan abortus inkomplit dengan umur kehamilan d"14 minggu yang datang ke IRD dan Poliklinik Obstetri dan Ginekologi RSUP Sanglah Denpasar. Ibu-ibu hamil yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi seperti yang disebutkan di atas dimasukkan dalam sampel abortus inkomplit dan sampel hamil normal kemudian diminta untuk membaca dan menandatangani formulir yang telah disediakan, dilakukan pengambilan darah dan selanjutnya dilakukan penanganan sesuai dengan pedoman terapi Lab/SMF Obstetri dan Ginekologi FK Unud/RSUP Sanglah Denpasar. Hasil pemeriksaan dicatat dalam lembar pengumpulan data kemudian dilakukan tabulasi dan analisis data. Data yang terkumpul diproses dengan sistem komputer menggunakan program SPSS. Karakteristik sampel disajikan secara deskriptif, dengan menggunakan tabel dan narasi. Uji normalitas dengan tes *One-Sample Kolmogorov-Smirnov*, uji homogenitas dengan *Levene's test*. Uji *t-independent* untuk membandingkan nilai rerata 8-OHdG antara kelompok abortus inkomplit dengan kelompok hamil normal dengan tingkat kemaknaan  $P<0,05$ . Perhitungan rasio prevalens dengan uji *Chi-Square*.

Kadar serum 8-OHdG adalah nilai satuan 8-OHdG serum yang diperiksa dengan metoda ELISA dan dikerjakan di Laboratorium Klinik RSUP Sanglah. Abortus inkomplit trimester I adalah setiap pasien yang didiagnosis abortus inkomplit d" 14 minggu oleh tim jaga IRD Kebidanan RSUP

Sanglah Denpasar. Umur kehamilan trimester I adalah umur hamil d' 14 minggu yang dihitung dari hari pertama haid terakhir (HPHT) menurut Naegle. Kehamilan normal adalah kehamilan trimester I tanpa keluhan dan sesuai dengan umurnya secara klinik atau pada USG ditemukan hal sama.

Penelitian ini telah mendapatkan keterangan kelaikan etik dari Komisi Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar nomor 893/UN.14.2/Litbang/2012.

## HASIL PENELITIAN

Dari 96 orang sampel, 68 orang memenuhi kriteria inklusi dan 28 orang dieksklusi. Dari 28 orang yang dieksklusi 6, orang karena abortus provokatus, 5 orang karena abortus inkomplit infeksius dan 17 orang menolak ikut penelitian. Enam puluh delapan sampel dikelompokkan menjadi 34 orang dengan abortus inkomplit dan 34 orang hamil normal.

Rerata umur ibu kelompok abortus inkomplit lebih muda dibandingkan kelompok hamil normal. Rerata paritas kelompok abortus inkomplit lebih kecil dibandingkan dengan kelompok hamil normal dan rerata umur kehamilan kelompok abortus inkomplit lebih tua dibandingkan rerata kelompok hamil normal. Tetapi perbedaan ketiga variabel antara kelompok abortus inkomplit dengan hamil normal tampak sebanding. Selanjutnya karakteristik subjek dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Rerata kadar 8-OHdG antara kelompok abortus inkomplit dengan kelompok hamil normal berbeda secara bermakna ( $P=0,001$ ), dengan beda rerata kedua kelompok 1,97 (IK95% 1,38 sampai 2,56) (**Tabel 2**). Hasil tersebut sesuai dengan hipotesis penelitian ini yaitu kadar serum 8-OHdG lebih tinggi pada abortus

**Tabel 1.** Karakteristik subjek penelitian pada kelompok abortus inkomplit dan kelompok hamil normal

Variabel	Kelompok	
	Abortus inkomplit	Hamil normal
Umur ibu (tahun)	26,65 (SB 5,09)	28,03 (SB 4,79)
Paritas	0,94 (SB 0,95)	1,18 (SB 1,06)
Umur kehamilan (minggu)	10,79 (SB 1,92)	10,63 (SB 2,13)

**Tabel 2.** Perbedaan rerata kadar 8-OHdG antara kelompok abortus inkomplit dengan kelompok hamil normal

Kelompok	N	Rerata 8-OHdG (ng/ml)	Beda rerata (IK95%)	P
Abortus inkomplit	34	5,00 (SB 1,54)	1,97 (1,38 sampai 2,56)	0,001
Hamil normal	34	3,03 (SB 0,78)		

**Tabel 3.** Risiko abortus inkomplit berdasarkan kadar 8-OHdG

		Kelompok		RP	IK 95%	P
		Abortus inkomplit	Hamil normal			
Kadar 8O HdG (ng/ml)	Tinggi	31	6	8,66	2,93 sampai 25,62	0,001
	Rendah	3	28			

inkomplit dibandingkan dengan kehamilan normal trimester I.

**Tabel 3** menunjukkan bahwa kadar 8-OHdG pada kelompok abortus inkomplit lebih tinggi dibandingkan kelompok hamil normal (RP=8,66 IK95%=2,93 sampai 25,62  $P=0,001$ ). Dengan uji *Chi-Square* kadar 8-OHdG yang tinggi berhubungan dengan peningkatan kejadian abortus inkomplit sebesar 8,7 kali (RP 8,66). Nilai *cut off point* kadar 8-OHdG berdasarkan kurva ROC adalah 3,73 ng/ml, dengan nilai sensitivitas 91,2% dan nilai spesifisitas sebesar 82,4%.

## DISKUSI

Terdapat perbedaan pada karakteristik kedua kelompok abortus inkomplit dan kelompok

hamil normal, tetapi perbedaan tersebut tampak sebanding. Ini berarti bahwa pada saat hamil terjadinya abortus inkomplit tidak dipengaruhi oleh umur ibu, demikian juga umur kehamilan dan paritas. Rerata kadar 8-OHdG antara kelompok abortus inkomplit dengan kelompok hamil normal berbeda secara bermakna ( $P=0,001$ ). Apabila kita analisis hasil penelitian tersebut di atas berarti memang benar terjadi kerusakan DNA pada abortus inkomplit. Pada masa awal kehamilan, ekspulsi spontan kehamilan umumnya terjadi akibat berhentinya proses-proses biologis pada embrio. Penelitian yang dilakukan oleh Hariadi<sup>11</sup> pada tahun 2004 terhadap 1000 kasus abortus spontan

menunjukkan bahwa 49% kasus terjadi degenerasi embrio. Hal tersebut dapat disebabkan oleh cacat kromosom dari salah satu orang tua yang bertindak sebagai pembawa kromosom cacat. Abnormalitas akibat cacat kromosom dapat dimulai pada saat meiosis gamet, fertilisasi atau pembelahan dini mitosis. Kelainan kromosom yang terjadi lebih dini akibat buruknya kualitas oosit, maka pengeluaran hasil konsepsi abnormal tanpa didahului periode amenorea. Berdasarkan hasil penelitian lain, didapatkan bahwa usia gamet berkaitan dengan kejadian abortus spontan.<sup>12</sup>

Peningkatan marker kerusakan oksidatif DNA, 8-OHdG pada sel granulosa dan *cumulus oophorus cells* berhubungan dengan rendahnya kemampuan fertilisasi oosit, kualitas embrio yang rendah dan mengurangi kesuksesan implantasi. Gamet-gamet abnormal kecil kemungkinannya menghasilkan konsepsi dibandingkan dengan gamet normal. Apabila tetap terjadi pembuahan maka seleksi menyebabkan sebagian besar hasil konsepsi aneuploidi (kelainan kromosom) akan lenyap sebelum implantasi.<sup>3</sup> Hal tersebut dapat terjadi akibat buruknya kualitas oosit dan sistem hormonal yang mendukung terjadinya fertilisasi seperti insufisiensi fase luteal. Kondisi endometrium dan faktor hormonal yang mengatur peristaltik tuba dan kontraksi uterus, maturasi endometrium dan pembentukan desidua, reaksi dan umpan balik proses nidasi blastokis, serta hubungan seluler trofoblas dengan endometrium sangat menentukan kualitas dan kelangsungan hidup embrio. Dengan demikian semua faktor yang diperlukan untuk kelangsungan hidup embrio harus berada pada kondisi yang optimal. Begitu juga dengan infeksi dan beberapa penyakit sistemik pada ibu telah diketahui sebagai penyebab abortus spontan.<sup>9</sup>

Radikal hidroksil dapat menyebabkan kelainan kromosom/buruknya kualitas oosit. Dari beberapa penelitian tentang kualitas oosit, didapatkan konsentrasi 8-OHdG pada cairan intrafolikel wanita yang menjalani IVF-ET diperoleh dengan tingkat degenerasi oosit yang tinggi.<sup>12</sup> Oksigenasi intrafolikel yang rendah berhubungan dengan penurunan potensi berkembangnya oosit seperti yang direfleksikan dengan meningkatkan frekuensi kerusakan sitoplasma oosit, menyebabkan lemahnya pembelahan dan kelainan agregasi kromosom oosit yang berasal dari folikel yang miskin vaskularisasi. ROS bertanggung jawab terhadap terjadinya fragmentasi embrio sebagai akibat peningkatan apoptosis. Dengan meningkatnya level ROS tidak memungkinkan pertumbuhan dan perkembangan embrio. Penelitian terkini lebih memfokuskan diri kepada kemampuan *growth factors* untuk melindungi keadaan embrio in vitro dari pengaruh ROS yang merugikan seperti apoptosis.

Plasentasi yang abnormal mengarah kepada stres oksidatif plasenta yang merugikan sinsiotrofoblast dan terlibat dalam mekanisme etiopatogenesis abortus. Puncak ekspresi dari marker stres oksidatif pada trofoblast terdeteksi pada kehamilan normal dan jika berlebihan akan menyebabkan abortus dini.<sup>11</sup>

Pada manusia proses oksidatif terjadi di dalam mitokondria, gunanya untuk menghasilkan energi yang dibutuhkan manusia itu sendiri. Pada wanita hamil jumlah mitokondrianya bertambah banyak karena plasenta yang terbentuk kaya mitokondria. Bertambahnya jumlah mitokondria akan meningkatkan aktivitas reaksi dan apabila tubuh tidak mampu untuk mengeliminirnya maka terbentuklah suatu keadaan yang disebut stres oksidatif. Terbentuknya spesies oksigen reaktif memicu terjadinya

peroksidasi asam lemak tidak jenuh, kerusakan membran lipid maupun darah sehingga mempengaruhi fungsi sel. Beberapa reaksi oksidasi yang terjadi ini menghasilkan radikal bebas oksigen.

Kehamilan merupakan suatu kondisi yang sangat rentan terhadap segala macam stres yang berakibat pada terjadinya perubahan fisiologis maupun fungsi metabolik. Pada kehamilan juga terjadi peningkatan kebutuhan energi dan oksigen. Selain itu plasenta ternyata mengandung banyak mitokondria yang meningkatkan proses metabolisme oksidatif untuk menghasilkan energi. Proses metabolisme ini meningkatkan penggunaan oksigen dan apabila oksigen yang digunakan tidak maksimal, menyebabkan terbentuknya stres oksidatif dan keadaan ini menghasilkan radikal bebas berlebihan yang akhirnya berpengaruh terhadap kelangsungan suatu proses kehamilan.

Serangan radikal hidroksil terhadap oosit sebelum fertilisasi juga serangan terhadap proses fertilisasi dan perkembangan embrio, implantasi, pembentukan dan perkembangan plasenta sama-sama memberikan peran yang sangat besar terhadap kelangsungan kehamilan di trimester pertama.

## SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan kadar serum 8-OHdG secara bermakna lebih tinggi pada kelompok abortus inkomplit dibandingkan dengan kelompok hamil normal. Pada kadar 8-OHdG yang tinggi maka terjadinya abortus inkomplit adalah 8,7 kali lebih banyak dibandingkan hamil normal.

Diperlukan penelitian multi-senter, penelitian kasus kontrol atau penelitian kohort dengan memanfaatkan hasil penelitian ini untuk meningkatkan validasi hasil. Perlu dipertimbangkan

untuk memeriksa kadar 8-OHdG dan pemberian antioksidan sebelum merencanakan hamil untuk mencegah terjadinya abortus inkomplit.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Rouse DJ, dkk. Abortion. Dalam: Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Rouse DJ, dkk., penyunting. Williams Obstetric. Edisi ke-23. Texas: The McGraw-Hill Companies; 2010. h. 350-76.
2. Griebel CP, Halvorsen J, Golemon TB, Day AA. Management of spontaneous abortion. *Am Fam Physician*. 2005;72:1243-50.
3. Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap III LC, Hauth JC, Wenstrom KD. Abortus : Abortus inkomplit. Dalam: Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap III LC, Hauth, JC, Wenstrom KD, penyunting. Obstetric Williams. Edisi ke-21. Texas: The McGraw-Hill Companies; 2006. h. 951-65.
4. Seino T, Saito H, Kaneko T, Takahashi T, Kawachiya S, Kurachi H. Eight-hydroxy-2'-deoxyguanosine in granulose cells is correlated with the quality of oocyte and embryo in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *ASRM*. 2002;77[6]:1184-90.
5. Ledo A, Arduini A, Asensi MA, Sastre J, Escrig R, Brugada M, dkk. Human milk enhances antioxidant defences against hydroxyl radical aggression in preterm infants. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2009;89: 210-5.
6. Eric J, Tereza C, Jemma J, Christina D, Joanne H, Frank J, dkk. Distribution and transfer pathways of antioxidant molecules inside the first trimester human gestational sac. *Journal Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2004;89[3]: 1452-8.
7. Gracia CR, Sammel MD, Chittams J, Hummel AC, Shaunik A, Barnhart KT. Risk factors for spontaneous abortion in early symptomatic first-trimester pregnancies. *ACOG*. 2005;106[5]:993-9.
8. Sadler TW, Langman Jan. General embryology. Dalam: Sadler TW, penyunting. Langman's Medical Embryology. Edisi ke-9. Montana: Twin Bridges; 2003. h. 8-45.
9. Behrman HR, Kodaman PH, Preston SL, Gao S. Oxydative stress and the ovary. *J.Soc Gynecol Investig*. 2001;8 [suppl.1]:S40-2.
10. Agarwal A. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology [Serial Online]* 2006 Jan [diakses 10 Januari 2011]; 1 [1]: [21 screen]. Diunduh dari: URL: <http://www.rbej.com>
11. Hariadi R. Fisiologi janin. Dalam: Hariadi R, penyunting. Ilmu Kedokteran Fetomaternal. Edisi Perdana. Surabaya: Himpunan Kedokteran Fetomaternal POGI; 2004. h. 32-335.
12. Tamura H, Takasaki A, Miwa I, Taniguchi K, Maekawa R, Asada H, dkk. Oxidative stress impairs oocyte quality and melatonin protects oocytes from free radical damage and improve fertilization rate. *Journal of Pineal Research*. 2008;44:280-7.