



STEM CELL THERAPY ON ANIMAL MODEL (*Rattus norvegicus*) END GESTATIONAL TIME EXPOSED TO CARBON BLACK AS OBSERVED FROM CASPASE-3 EXPRESSION

TERAPI STEM CELL PADA TIKUS PUTIH MODEL KEHAMILAN AKHIR
YANG DIPAPAR CARBON BLACK TERHADAP EKSPRESI CASPASE-3 SEL
TROFOBLAS

Research Report
Penelitian

Agung Budianto Achmad¹, Sri Pantja Madyawati², Widjiati³

¹Department of Health, Faculty of Vocational Education, Universitas Airlangga, Surabaya-Indonesia

²Department of Veterinary Reproduction, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya-Indonesia

³Department of Veterinary Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya-Indonesia

ABSTRACT

Background: Air pollution in the form of Diesel Exhaust Particles emerging from motor vehicles are harmful to health that have adverse reproductive health impacts, especially during pregnancy. The use of stem cells in treating white mice (*Rattus norvegicus*) exposed to carbon black can reveal the potential for treatment of placental impairment during pregnancy. **Purpose:** to demonstrate the effectivity of Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell therapy on rats (*Rattus norvegicus*) exposed to carbon black as observed from caspase-3 expression. **Methods:** This research uses a completely randomized design with factorial pattern. Forty-eight gravid female rats were divided into six treatment groups. **Results:** caspase-3 expression in each treatment showed no significant differences in the groups treated with RBMMSC in each gravid groups treatment (therapy GD 11 and GD 17) were exposed to carbon black and not treated with RBMMSC. The same are indicated by the normal trophoblast cells (cytotrophoblast and syncytiotrophoblast cells) in the RBMMSC treated group showed no significant difference with the group exposed to carbon black only. **Conclusion:** this research indicate that Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell therapy in *Rattus norvegicus* exposed to carbon black have not been able to reduce expression of caspase-3.

ABSTRAK

Latar Belakang: Pencemaran udara yang berupa Diesel Exhaust Partikel yang keluar dari mesin kendaraan bermotor berbahaya bagi kesehatan yang memiliki dampak merugikan terhadap kesehatan reproduksi, terutama pada masa kehamilan. Penggunaan stem cell dalam mengobati tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar carbon black dapat mengungkap potensi terapi tersebut terhadap gangguan plasentasi selama kebuntingan. **Tujuan:** untuk melihat efektivitas terapi stem cell terhadap tikus yang dipapar carbon black terhadap gambaran ekspresi Caspase-3 sel Trofoblast. **Metode:** penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan pola faktorial. Sebanyak empat puluh delapan tikus betina bunting dibagi menjadi enam kelompok perlakuan. **Hasil:** Ekspresi Caspase-3 dari setiap perlakuan menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok yang diobati dengan Stem Cell pada setiap kelompok Kebuntingan (GD 11 dan GD 17) yang dipapar Carbon Black dan yang tidak diterapi. Hal yang sama ditunjukkan

ARTICLE INFO

Received 25 December 2017

Accepted 14 February 2018

Online 30 March 2018

* Correspondence (Korespondensi):
Agung Budianto Achmad

E-mail:
ab.achmad@vokasi.unair.ac.id

oleh sel-sel trofoblas normal (sel sitotrofoblas dan sel syncytiotrophoblast) pada kelompok yang diobati RBMMSC menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan kelompok yang terpapar carbon black. **Kesimpulan:** Terapi Stem cell pada tikus putih bunting yang di paparkan carbon black belum dapat menurunkan ekspresi Caspase-3.

Kata kunci:

Carbon black, Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell, Caspase-3

PENDAHULUAN

Pencemaran pada lingkungan telah menjadi masalah yang serius dalam beberapa tahun terakhir ini. Pencemaran yang terjadi pada saat ini adalah akibat perkembangan dari sektor industri, pertanian, serta peningkatan populasi manusia (Timbrell, 2002). Kemajuan dalam bidang industri dan peningkatan jumlah kendaraan bermotor yang menggunakan energi berbahan bakar fosil pada negara-negara berkembang merupakan sumber utama dalam pencemaran udara. Diperkirakan pencemaran udara dan kebisingan akibat kegiatan industri dan kendaraan bermotor akan meningkat dua kali lipat pada tahun 2000 dari kondisi tahun 1990 dan sepuluh kali lipat pada tahun 2020 (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2012). Peningkatan jumlah kendaraan yang ada sebanding dengan peningkatan jumlah emisi yang dihasilkan (Hickman, 1999). Peningkatan emisi yang dihasilkan akan berdampak pada udara. Dampak dari pencemaran udara yang berasal dari emisi gas buang kendaraan bermotor dan industri dapat menyebabkan penurunan kualitas udara, yang berdampak negatif terhadap kesehatan manusia (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2012).

Buangan partikel yang berasal dari mesin-mesin diesel (*diesel exhaust particles/DEP*), berkontribusi secara signifikan terhadap partikulat polusi udara pada udara diperkotaan. Buangan partikel yang berasal dari mesin diesel kendaraan memiliki ukuran yang sangat kecil (*ultrafine*) kurang dari 0.05–0.2 μm (Hougaard et al., 2008). Salah satu buangan partikel yang berasal dari mesin diesel kendaraan bermotor adalah *carbon black*. *Carbon black* merupakan salah satu partikel *particulate matter* hasil pembakaran (*combustion-derived*) yang tersuspensi pada polusi udara (Barlow et al., 2005; Shinde et al., 2011) yang memiliki dampak merugikan terhadap kesehatan reproduksi, terutama pada masa kehamilan dikarenakan ukuran partikel *carbon black* yang sangat kecil yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel plasenta (Sudaryanti, 2010). Dikarenakan memiliki ukuran yang sangat kecil (*ultrafine*), *particulate matter carbon black* dapat melewati *placenta barrier* dan mempengaruhi janin sehingga menyebabkan terjadinya *Intra Uterina Growth Retardation* (IUGD) (Dejmek et al., 1999; Garza et al., 2008; Wick et al., 2009; Berkowitz et al., 2009).

Carbon black yang masuk melalui paru-paru (inhalasi) diketahui dapat berpengaruh terhadap fetus melalui beberapa mekanisme diantaranya: secara langsung

dapat masuk ke dalam plasenta melalui pembuluh darah sehingga dapat mengakibatkan perubahan fungsi pada plasenta dan secara tidak langsung akibat sitokin inflamasi yang masuk ke dalam sirkulasi darah sehingga dapat memicu stres oksidatif pada sel plasenta dan fetus (Hougaard et al., 2008). Stres oksidatif yang terbentuk menginduksi perubahan pada jaringan plasenta dan memberikan kontribusi terhadap berat plasenta menjadi lebih rendah serta luaran kebuntingan berupa IUGR, berat badan lahir rendah maupun cacat bawaan (Sagai et al., 1993; Kamath et al., 2006; Biri et al., 2007; Suryohudoyo., 2007; Veras et al., 2008).

Penggunaan *stem cell* memiliki potensi yang sangat menjanjikan dalam mengobati penyakit yang tidak dapat disembuhkan dengan menggunakan metode pengobatan konvensional. Kerusakan pada plasenta akibat paparan *carbon black* bersifat *irreversibel*, sehingga terapi menggunakan obat-obatan konvensional hanya mampu memperlambat atau mencegah kerusakan jaringan yang lebih luas. Satu-satunya cara yang harus ditempuh dalam memperbaiki kerusakan tersebut dengan mengganti komponen sel atau jaringan yang rusak dengan yang baru. Terapi dengan menggunakan *stem cell* memiliki kemampuan untuk menyembuhkan penyakit dengan mengganti komponen sel yang rusak (Halim dkk., 2010). Pada kasus teratogenik, pemberian *Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell* dapat menekan inflamasi, apoptosis dan cacat kongenital (Lee et al., 2007). Oleh karena itu perlu diketahui efektifitas terapi penggunaan *Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell* dalam mengobati tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipaparkan *carbon black*, sehingga dapat diungkap potensi terapi tersebut terhadap gangguan plasentasi selama kebuntingan.

MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan Pola Faktorial. Sebanyak 48 ekor tikus betina bunting dibagi menjadi enam kelompok perlakuan. Perlakuan P₁.Kelompok-1 (tanpa dipaparkan *carbon black* pada umur kebuntingan 6-11 hari), P₁.Kelompok-2 (dipaparkan *carbon black* pada umur kebuntingan 6-11 hari dosis 532 mg/m³ selama 4 jam), P₁.Kelompok-3 (dipaparkan *carbon black* pada umur kebuntingan 6-11 hari dosis 532 mg/m³ selama 4 jam + RBMMSC 1x10⁶/0,1 ml I.V), P₂.Kelompok-1 (tanpa dipaparkan *carbon black* pada umur kebuntingan 6-17 hari), P₂.Kelompok-2 (dipaparkan *carbon*

black pada umur kebuntingan 6-17 hari dosis 532 mg/m³ selama 4 jam), P₂. Kelompok-3 (dipapar *carbon black* pada umur kebuntingan 6-17 hari dosis 532 mg/m³ selama 4 jam + RBMMSC 1x10⁶/0,1 ml I.V).

Hewan coba ditempatkan dalam kandang pemeliharaan sampai perlakuan dimulai. Sebelum percobaan, dilakukan aklimatisasi pada boks paparan. Hewan coba dimasukkan dalam boks paparan untuk diberikan perlakuan, sejak kebuntingan hari ke-6 s/d hari ke-11 dan hari ke-6 s/d hari ke-11 ke-17. Pada kelompok perlakuan kebuntingan hari ke-11 dan hari ke-17 setelah perlakuan hewan coba dimasukkan kandang individu, dan pada hari terakhir pemaparan yaitu kebuntingan hari ke-11 pada P₁. Kelompok-3 serta kebuntingan hari ke-17 pada P₂.Kelompok-3 diberikan terapi *Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell*. Pada hari ke-12 pada semua kelompok P₁ dikorbankan, begitu juga dengan P₂, semua kelompok dikorbankan pada hari ke-18.

Tikus yang telah dipapar *particulate matter carbon black* pada kelompok P₁. Kelompok-3 dan P₂. Kelompok-3, masing-masing pada kebuntingan hari ke-11 dan kebuntingan hari ke-17, kemudian diterapi dengan RBMMSC dengan dosis 1x10⁶ sel/0,1 ml (Madyawati dan Rimayanti, 2013). Tikus yang akan diterapi, pada bagian ekornya terlebih dahulu dibersihkan dan diberikan alkohol, hal ini bertujuan agar terjadi vasodilatasi pada vena coccygealis serta agar pada saat terapi dilakukan dengan aseptis. Setelah semua prosedur dilaksanakan RBMMSC diinjeksikan melalui vena coccygealis.

Preparat plasenta yang telah dibuat dengan menggunakan metode pewarnaan immunohistokimia, kemudian dilakukan penilaian ekspresi caspase-3 pada sel sitotrofoblas plasenta dengan menggunakan metode Indeks Skala Remmele yang telah dimodifikasi. Penilaian ekspresi Caspase-3 dilakukan dengan 10 lapangan pandang berbeda dengan pembesaran 1000x. Setiap hasil penilaian ekspresi caspase-3 pada setiap lapangan pandang dihitung dan kemudian dimasukkan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

Ekspresi Caspase-3 =

$$\frac{\text{[Ekspresi Lapangan pandang 1+...Ekspresi Lapangan pandang N]}}{\text{Jumlah Lapangan Pandang yang diperiksa}}$$

HASIL

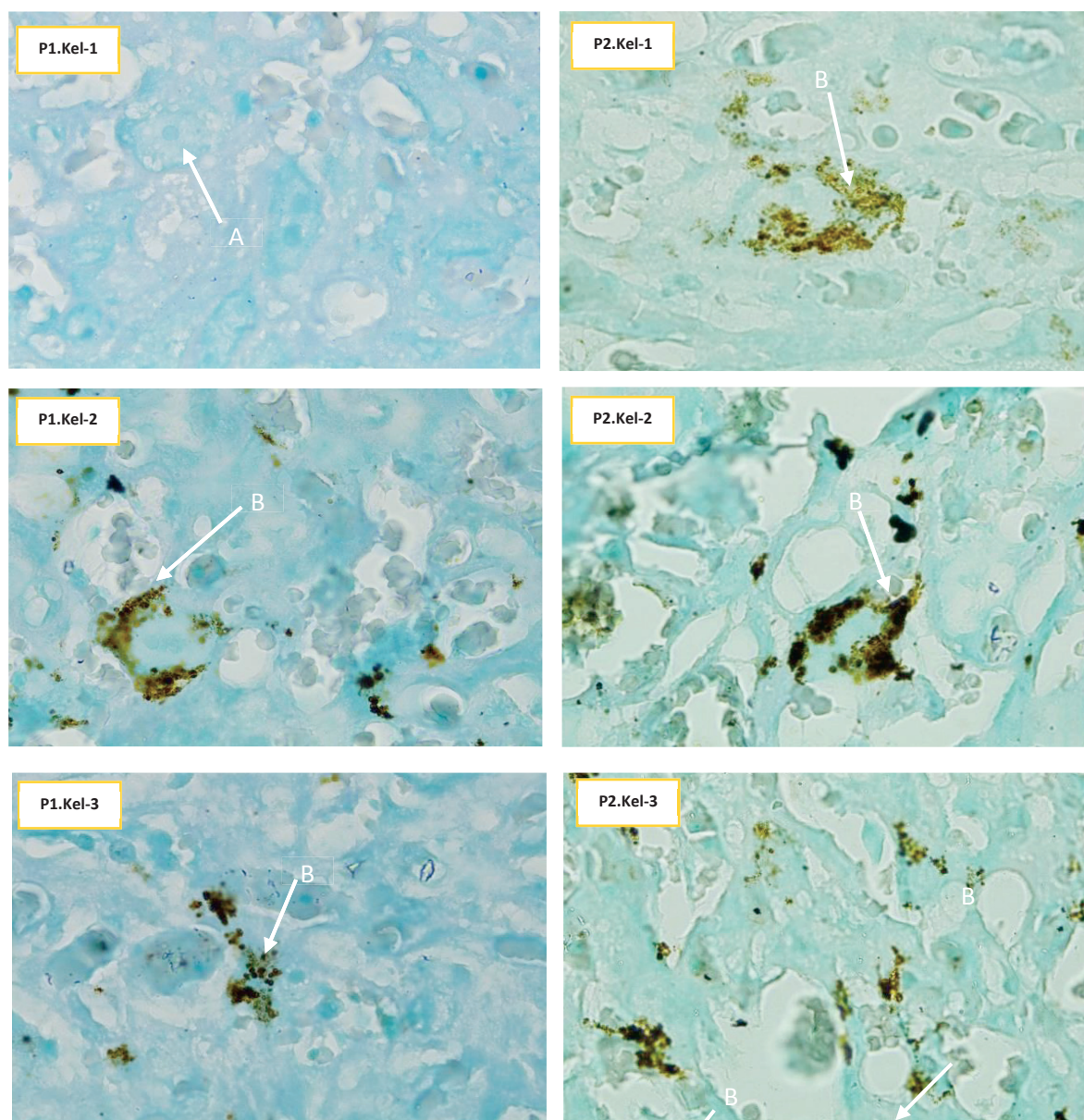
Hasil perhitungan ekspresi Caspase-3 pada sel trofoblas plasenta, dengan menggunakan metode semikuantitatif Indeks Skala Remmele yang telah dimodifikasi. Dari hasil uji Kruskal-Wallis didapatkan hasil berbeda sangat nyata ($p < 0,01$). Hasil yang berbeda sangat nyata pada tiap faktor menunjukkan adanya interaksi faktor yang mempengaruhi ekspresi Caspase-3 pada setiap kelompok. Dengan adanya interaksi setiap faktor, kemudian dilanjutkan dengan uji Mann Whitney setiap kelompok perlakuan untuk melihat adanya perbedaan antar dua perlakuan.

Tabel. 1 Hasil Uji Mann Whitney Ekspresi Caspase-3 pada sel Trofoblas Plasenta

Ekspresi Caspase-3	Kelompok	Kelompok Banding	Signifikansi
Caspase-3	P ₁ .Kelompok-1	P ₁ .Kelompok-2	0,000**
		P ₁ .Kelompok-3	0,000**
		P ₂ .Kelompok-1	0,000**
		P ₂ .Kelompok-2	0,000**
		P ₂ .Kelompok-3	0,000**
Caspase-3	P ₁ .Kelompok-2	P ₁ .Kelompok-3	0,958
		P ₂ .Kelompok-1	0,011*
		P ₂ .Kelompok-2	0,001**
		P ₂ .Kelompok-3	0,027*
Caspase-3	P ₁ .Kelompok-3	P ₂ .Kelompok-1	0,071
		P ₂ .Kelompok-2	0,001**
		P ₂ .Kelompok-3	0,020*
Caspase-3	P ₂ .Kelompok-1	P ₂ .Kelompok-2	0,001**
		P ₂ .Kelompok-3	0,003**
Caspase-3	P ₂ .Kelompok-2	P ₂ .Kelompok-3	0,671

Keterangan : *Signifikansi pada $p < 0,05$; **Signifikansi pada $p < 0,01$

Dari tabel diatas dapat terlihat bahwa pada perlakuan P₁.Kelompok-1 (tikus betina tanpa paparan *carbon black* pada umur kebuntingan hari ke-6 s/d hari ke-11) terlihat berbeda sangat nyata dibandingkan pada semua kelompok perlakuan ($p < 0,01$). Begitu juga dengan perlakuan P₁.Kelompok-2 (tikus betina dengan paparan *carbon black* 532 mg/m³ selama 4 jam pada umur kebuntingan hari ke-6 s/d hari ke-11) yang terlihat berbeda sangat nyata dengan perlakuan P₂.Kelompok-2 (tikus betina dengan paparan *carbon black* 532 mg/m³ selama 4 jam pada umur kebuntingan hari ke-6 s/d hari ke-17) ($p < 0,01$) dan berbeda nyata dengan kelompok P₂.Kelompok-1 (tikus betina tanpa paparan pada umur kebuntingan hari ke-6 s/d hari ke-11) dan P₂.Kelompok-3 (tikus betina dengan paparan *carbon black* 532 mg/m³ selama 4 jam pada umur kebuntingan hari ke-6 s/d hari ke-17 + RBMMSC 1x10⁶/0,1 ml), serta tidak berbeda nyata dengan kelompok P₁.Kelompok-3 (tikus betina dengan paparan *carbon black* 532 mg/m³ selama 4 jam pada umur kebuntingan hari ke-6 s/d hari ke-11 + RBMMSC 1x10⁶/0,1 ml). Pada perlakuan P₁.Kelompok-3, terlihat tidak berbeda nyata dengan kelompok P₂.Kelompok-1, namun dengan perlakuan P₂.Kelompok-2 berbeda sangat nyata dan dengan perlakuan P₂.Kelompok-3 berbeda nyata. Pada perlakuan P₂.Kelompok-1 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P₂.Kelompok-2, dan P₂.Kelompok-3. Pada perlakuan P₂.Kelompok-2 tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok P₂.Kelompok-3. Berdasarkan hasil diatas menunjukkan bahwa efek terapi *Rat Bone marrow Mesenchymal Cell* terhadap tikus putih yang dipapar *carbon black* belum dapat menurunkan ekspresi Caspase-3 pada sel trofoblas plasenta umur kebuntingan hari ke-12 dan hari ke-18.



Gambar 1. Ekspresi Caspase-3 pada sel Trofoblas plasenta tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada tiap kelompok perlakuan. Keterangan: (A). Menunjukkan tidak adanya ekspresi Caspase-3 berupa warna kuning kecoklatan dan B. Menunjukkan adanya ekspresi Caspase-3 pada perlakuan. (Pewarnaan Imuno-histokimia; perbesaran 1000 kali).

PEMBAHASAN

Dari hasil uji Mann Whitney menunjukkan perbedaan antara umur paparan kebuntingan umur hari ke-6 s/d hari ke-11 dan hari ke-6 s/d hari ke-17. Pada setiap perlakuan paparan *carbon black* umur kebuntingan hari ke-6 s/d hari ke-17 menunjukkan adanya peningkatan ekspresi caspase-3. Pada kelompok perlakuan P₂.Kelompok-1 tanpa perlakuan pemaparan *carbon black* menunjukkan ekspresi caspase-3 yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok yang perlakuan lainnya dalam kelompok hari kebuntingan yang sama (P₂.Kelompok-2, dan P₂.Kelompok-3), ekspresi ini normal terjadi ketika semakin mendekati hari kelahiran (Straszewski-Chaves and Gil Mor, 2005). Peningkatan ekspresi Caspase-3

meningkat bersamaan dengan peningkatan lamanya pemberian paparan *Carbon black* pada umur kebuntingan hari ke-6 s/d hari ke-17. Pada perlakuan P₂.Kelompok-2 sebagai kontrol paparan *carbon black* pada umur kebuntingan hari ke-6 s/d hari ke-17, memiliki ekspresi caspase-3 yang tidak jauh berbeda dengan perlakuan P₂.Kelompok-3. Pada perlakuan P₂.Kelompok-3 yang diberikan terapi *Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell* (RBMMSC), ternyata belum dapat menurunkan ekspresi caspase-3

Ketidakmampuan RBMMSC dalam menurunkan ekspresi caspase-3 pada perlakuan P₁.Kelompok-3 dan P₂.Kelompok-3, kemungkinan besar diakibatkan oleh waktu yang diberikan hanya sehari kepada RBMMSC

untuk bekerja sebelum hewan coba dikorbankan, sehingga RBMMSC belum mampu bekerja maksimal dalam melakukan *signaling cell* untuk menekan sistem imun (imunopresif). Dengan waktu yang singkat, IL-10 yang disekresikan oleh RBMMSC belum mampu menurunkan kadar sitokin TNF- α di dalam tubuh yang menyebabkan terjadinya apoptosis pada sel trofoblas. Selain itu RBMMSC juga belum dapat bekerja secara optimal dalam mengatur perbandingan protein pro-apoptotik Bax dan protein anti-apoptotik Bcl-2 di dalam sel trofoblas.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terapi *Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell* (RBMMSC) pada tikus model kehamilan akhir belum mampu menurunkan ekspresi Caspase-3 pada sel trofoblas plasenta.

DAFTAR PUSTAKA

- Barlow, P.G, Baker, A.C., Donaldson, K., MacCallum, J., Stone, V. 2005. Carbon Black Nanoparticles Induce Type II Epithelial Cells to Release Chemotaxins for Alveolar Macrophages. *J. Particle and Fibre Toxicol.* 2:11 Pp.1–14.
- Berkowitz, G.S., Wolff, M.S., Janevic, T.M., Holzman, I., Yehuda, R., Landrigan, P. 2009. The World Trade Center disaster and intrauterine growth restriction. *J. American Med. Ass.*, 290(5): Pp.595–596.
- Biri, A., Bozkurt, N., Turp, A., Kavutcu, M., Himmetoglu, O., Durak, I. 2007. Role of Oxidative Stress in Intrauterine Growth Restriction. *J. Ginecol Obstet Invest* 64(4): Pp.187–192.
- Dachlan, E.G., Widjiati, Santoso, B. 2011. Pengaruh Paparan Partikulat Jelaga Terhadap Peningkatan Lipid Peroksidase, Kejadian Apoptosis Plasenta Dan Luaran Kebuntingan Pada Mekanisme Molekuler Gangguan Kebuntingan Tikus (*Rattus norvegicus*). [Laporan Penelitian] Universitas Airlangga.
- Dejmek, J., Selevan, G.S., Benes, I., Solansky, I., Sram, J.R. 1999. Fetal Growth and Maternal Exposure to Particulate Matter During Pregnancy. *Environ Health Perspect* 107: Pp. 475–480.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2002. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1407/Menkes/Sk/Xi/2002 Tentang Pedoman Pengendalian Dampak Pencemaran Udara. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Furukawa, S., Hayashi, S., Usuda, K., Abe, M., Hagio, S., Ogawa, I. 2011. Toxicological Pathology in the Rat Placenta. *J Toxicol Pathol* 2011; 24: Pp. 95–111
- Garza, K.M., Soto, K.F., Murr, L.E. 2008. Cytotoxicity and Reactive Oxygen Species Generation From Aggregated Carbon and Carbonaceous Nanoparticulate Materials. *Inter. J.I of Nanomed.* 3 (1): Pp.83–94.
- Halim, Danny., Murti, H., Sandra, F., Boediono, A., Djuwantono, T., Setiawan, B. 2010. *Stem Cell: Dasar teori & Aplikasi Klinis*. Edisi:1. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Hickman, A.J. 1999. *Methodology for Calculating Transport Emissions and Energy Consumption*. Transport Research Laboratory.
- Hougaard, K. S., Jensen., K. A., Nordly, P., Taxvig, C., Vogell, U., Saber, A. T., Wallin, H. 2008. Effects of Prenatal Exposure to Diesel Exhaust Particles on Postnatal Development, Behavior, Genotoxicity and Inflammation in Mice. *Particle and Fibre Toxicology* 5:3.
- Juliprihanto, A. 2012. Ekspresi caspase-9 dan Jumlah Sel Trophoblast Pada Tikus Putih yang Dipapar Carbon Black [Tesis]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kamath, U., Rao, G., Kamath, S.U, Rai, L. 2006. Maternal and Fetal Indicators of Oxidative Stress During Intra Uterine Growth Retardation (IUGR). *Ind. Jour. of Clin. Biochem.* 21 (1): Pp.111–115.
- Lee, B.E., E.H. Ha, Park, H.S., Hong, Y.C, Kim, H., Lee, J.T. 2003. Exposure to air pollution during different gestation phases contribute to risks of low birth weight. *Hum Reprod.* 18 (3): Pp.638–43.
- Madyawati, S.P, Rimayanti. 2013. Efektivitas Terapi *Rat Bone Marrow Stem Cell* Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Teratogenik *Particulate Matter* Terhadap Cacat Kongenital, Ekspresi TNF α , Kadar Progesteron dan Apoptosis plasenta [Laporan Penelitian]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sagai, M., Saito, H., Ichinose, T., Kodama, M., and Mori, Y. 1993. Biological effects of diesel exhaust particles. I. In vitro production of superoxide and in vivo toxicity in mouse. *Free Radic Biol Med* 14:Pp.37–47.
- Shinde, S.K, Grampurohit, N.D., Gaikwad, D.D., Jadhav, S.L., Gadhav, M.V., Shelke, P.K. 2012. Toxicity Induced by Nanoparticles. *Asian Pac J. Trop. Dis* 2(4). Pp.331–334.
- Straszewski-Chaves S.L, More, G. 2005. The Regulation of Human Trophoblast Apoptosis and Survival During Pregnancy. In: *Immunology Pregnancy*. Ed: Gill More. Eurekah.com and Springer Science+Business Media.
- Sudaryanti, L. 2012. Pengaruh paparan partikulat jelaga terhadap kadar *Malodialdehyde* plasenta dan luaran kebuntingan pada tikus (*rattus norvegicus*) [Tesis]. Pasca Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya.
- Suryohodoyo, P. 2007. *Kapita selekta ilmu kedokteran molekuler*. Sagung seto. Jakarta.
- Timbrell, J. 2002. *Introduction to Toxicology*. 3rd ed. Taylor & Francis Publisher. USA and Canada. Pp. 121–122.
- Wick, P., Malek, A., Manser, P., Meili, D., Althaus, X.M, Diener, L., Diener, P.A., Zisch, A., Krug, H.F., Mandagh, U.V. 2009. Barrier capacity of Human Placenta For Nanosized Materials. *Envir. Health Persp.* <http://dx.doi.org/> online [12 November 2009].
- Veras, M.M., Rodrigues, N.R., Caldini, E.G., Ribeiro, A.M., Mayhew, T.M., Saldiva, P.H.N., Dolnikoff, M. 2008. Particulate Urban Air Pollution Affects The Functional Morphology Of Mouse Placenta. *Biology of Reproduction* 79: Pp.578–584