

PENELITIAN

DAMPAK PEMBERIAN KADMIUM TERHADAP KADAR PROGESTERON DAN EKSPRESI PROSTAGLANDIN F2 α PADA UTERUS TIKUS WISTAR

Inda Corniawati¹⁾, Edi Mustofa²⁾, Retty Ratnawati³⁾

¹⁾Program Studi Kebidanan Samarinda Poltekkes Kemenkes Kaltim,

²⁾Laboratorium Obstetri dan Ginekologi RSUD Dr. Saiful Anwar Malang dan Bangil

³⁾Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

inda_corniawati@yahoo.co.id

Abstract. Cadmium pollution level in the Mahakam river water reported to be 0.06 mg / L., It can cause toxicity to the surrounding community who use for their daily needs. Female age group 6-18 years are at risk of impacts on the reproductive system. The goal of research is to prove the effect of giving Cadmium Acetate Dihydrate to the decreasing of progesteron rate, increasing PGF2 α expression of uterine tissue of rats wistar strain. This is the experimental laboratory post-test only control group using *Rattus norvegicus* of wistar strain. Analyzed using Shapiro-Wilk, One Way Anova (uji F), simple linear regression analysis, and Pearson correlation test. The finding of the research indicated that the administration of Cadmium Acetate Dihydrate of concentration 0.03 ppM; 0.06 ppM; 0.09 ppM could decrease progesteron level $p=0.000$. However, The data were analyzed using LSD the decrease in the level of progesteron did not depend on the concentration of Cadmium Acetate Dihydrate, on the increase of expression PGF2 α of basal zone $p=0.000$, stratum vascular $p=0.000$.

Keywords: Cadmium Acetate Dihydrate, Toxicity, Dismenore primer, Progesteron, PGF2 α

Abstrak. Tingkat pencemaran Kadmiun pada air sungai Mahakam dilaporkan mencapai 0,06 mg/L., hal ini dapat menyebabkan toksisitas bagi masyarakat sekitar yang menggunakan untuk kebutuhan sehari-hari. Perempuan usia 6-18 tahun merupakan kelompok yang beresiko terkena dampak terhadap sistem reproduksi. Tujuan penelitian untuk membuktikan dampak pemberian kadmiun terhadap penurunan kadar progesteron dan peningkatan ekspresi PGF2 α jaringan uterus tikus wistar. Jenis penelitian ini adalah eksperimen laboratorium *post test only with control group* pada tikus wistar. Analisa data uji Shapiro-Wilk, Anova One Way, regresi linier sederhana dan korelasi Pearson. Hasil penelitian pemberian Cadmium Acetate Dihydrate konsentrasi 0.03; 0.06; 0.09 ppM menurunkan kadar progesteron $p=0.000$ namun uji LSD menunjukkan penurunan kadar progesteron tidak tergantung konsentrasi. Adanya peningkatan ekspresi PGF2 α zona basal $p=0.000$, stratum vascular $p=0.000$.

Kata Kunci: Cadmium Acetate Dihydrate, Toksisitas, Dismenore primer, Progesteron, PGF2 α

PENDAHULUAN

Disminore primer ditandai dengan kondisi hiperkontraktilitas otot polos dan iskemia pada uterus yang kemudian menyebabkan terjadinya nyeri (Hillard, 2007) karena gangguan ini sifatnya subyektif, intensitasnya sulit dinilai dan menyebabkan seorang perempuan tidak produktif

lagi (Dawood 2006). Angka kejadian di Kelurahan Muara Sanga – Sanga di RT. 003 dan 004 remaja putri usia 6 – 18 Tahun mengeluh nyeri haid dalam siklus menstruasi (Laporan Kebidanan Komunitas 2011). Badan Penelitian dan Pengembangan Kemendagri tahun 2010 melaporkan kandungan Kadmiun pada air Sungai Mahakam : 0,06 mg/L. Angka

tersebut melebihi standar yang ditetapkan pada Peraturan Daerah Kalimantan Timur tahun 2001, yakni 0,01 mg/L sedangkan standart air minum menurut WHO tahun 2010 kandungan Kadmium 0.1 µg/L. Kadmium telah dibuktikan *mimicry* Kalsium melalui saluran type L tegangan Ca^{2+} (Chedrese *et al.*, 2006) sehingga dalam sel granulosa ovarium Cd^{2+} dapat mengurangi kemampuan FSH untuk mengikat reseptor FSH (FSH-R) dan mengubah produksi steroid (Priya *et al.*, 2004; Chedrese *et al.*, 2006). Kadmium juga mengganggu sintesis progesteron melalui *Steroidogenik Protein Acut* (STAR) dan kolesterol P450 dibawah kendali *cAMP dependent* (Zhang and Jia, 2007). Godt *et al.*, (2006) Kadmium secara luas didistribusikan dalam tubuh berikatan dengan albumin sedangkan lapisan epitel pembuluh darah endometrium merupakan endothelium dan lapisan epitel itu sendiri sebagai garis pertama pertahanan karena adanya toksisitas Kadmium memberikan sinyal (*cascade*) yang memicu pelepasan Prostaglandin (Ye Chun Ruan *et al.*, 2011) Pelepasan prostaglandin oleh endometrium menyebabkan otot polos uterus berkontraksi, menurunkan aliran darah ke endometrium, meningkatkan hipersensitivitas saraf tepi dan degradasi lapisan jaringan endometrium. Selain itu berdasarkan Macintyre *et al.*, 2007 seperti otot polos lainnya kontraktilitas miometrium terutama diatur oleh konsentrasi ion kalsium (Ca^{2+}) bebas di intraseluler dan adanya peningkatan Ca^{2+} menyebabkan Ca^{2+} mengikat kalmmodulin. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan dampak pemberian kadmium terhadap penurunan kadar progesteron dan peningkatan ekspresi $PGF2\alpha$ jaringan uterus tikus wistar.

METODE

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorik *post test only*

with control group pada tikus betina galur wistar berusia 10 – 12 minggu, berat badan 180 – 250 gram. Berjumlah 24 ekor. Dilakukan di laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Agustus – Oktober 2013. Hewan coba ada 6 ekor kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan peronde Kadmium konsentrasi 0.03; 0.06; 0.09 ppm/Kg/BB/hari dengan jumlah masing – masing 6 ekor selama 42 hari. Hewan coba dibedah fase diestrus

Konsentrasi Kadmium

Cadmium Acetate Dihydrate Merck KGaA Germany. Larutan Stok Cadmium Acetate Dihydrate $(CH_3COO)_2Cd \cdot 2H_2O$ 1000 mg/L dibuat dengan melarutkan serbuk Cadmium Acetate Dihydrate $(CH_3COO)_2Cd \cdot 2H_2O$ ke dalam 1000 ml aquabidest kemudian larutan uji dibuat dengan mengencerkan larutan stok sesuai dengan berat badan tikus yang di timbang setiap minggu. Pembuatan Konsentrasi Cadmium Acetate Dihydrate dilaksanakan di Laboratorium Analisis Kimia Politeknik Negeri Malang.

Pengukuran Kadar Progesteron

Dilakukan pemeriksaan kadar progesteron serum dengan metoda *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) menggunakan antibody spesifik untuk *rat Progesteron Medicine® R&D* Nomer REF.DZE30580 dengan prosedur awal sampel diambil dari darah disimpan dalam suhu $-80^\circ C$ sebelum diperiksa di amkan pada suhu ruangan ($18-25^\circ C$). Pada sumur mikrotiter yang telah dilapisi antibody *anti rat PROG* yang sudah diaktivasi kemudian tambahkan sampel serum tikus 1 µg/mL yang telah diinkubasi selama 2,5 jam pada suhu $4^\circ C$ dengan dishaker. Kemudian dilakukan pencucian 4x dan ditambahkan biotinylated antibody *HRP-Conjugated Streptavidin* dan diinkubasi selama 45 menit sambil dishaker. Selanjutnya dilakukan pencucian kembali

dan ditambahkan TMB *substrat solution* untuk memberikan warna pada Rat Prog yang terikat dan diinkubasi kembali selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan *stop solution* kemudian dibaca dengan ELISA Reader pada 450 nm. Hasil yang didapatkan diplot pada kurva standart untuk mendapatkan kadar progesteron ng/mL.

Pengukuran Ekspresi PGF2 α Uterus

Ekspresi PGF2 α secara immunohistokimia dengan cara organ uterus setelah di fiksasi, dehidrasi, claring (direndam dalam xylol), parafinasi lalu dibuat blok pada cetakan berlabel. Pematangan uterus irisan 10 μ m. Langkah immunohistokimia dengan Deparafinasi – Rehidrasi, preparat poly-L-Lysine dikeringkan diinkubasi Peroxidase Block. 3–4%(v/v) Hydrogen peroxide dalam PBS, blocking Protein Block 0.4%, Post Primary. *Rabbit anti mouse IgG* (<10 μ g/mL) in 10% (v/v) animal serum in tris-buffered saline/0.09% ProClin™ 950. Novolink™ Polymer. Anti-rabbit Poly-HRP-IgG (<25 μ g/mL) containing 10% (v/v) animal serum in tris-buffered saline/0.09% ProClin™ 950, Eencerkan antibodi sekunder berlabel NovoLink Polymer dalam PBS sampai konsentrasi dan volume yang diinginkan (Novolink™ Polymer. Anti-rabbit Poly-HRP-IgG (<25 μ g/mL) containing 10% (v/v) animal serum in tris-buffered saline/0.09% ProClin™ 950) selanjutnya tetesi dengan SA-HRP (*Strept avidin horseradish peroxidase*) 1:1000 dalam PBS selama 40 menit, cuci dengan PBS, tetesi DAB Chromogen. 1.74% w/v 3,3' – diaminobenzidine, counterstain dengan *mayer's hematoxilen* selama 30 menit, cuci dengan aquadest biarkan dalam suhu 27°C - 33°C langkah terakhir *mounting* entelan 100% tutup dengan cover glass. Diteliti di mikroskop OlyVIA menghitung intensitas warna immunohistokimia berdasarkan *grey level* pada channel magenta dan yellow menggunakan *corel photo paint* bagian

jaringan yang berwarna coklat pada daerah zona basal endometrium, stratum vasculare myometrium dan perimetrium / tunika serosa dengan pembesaran 200x

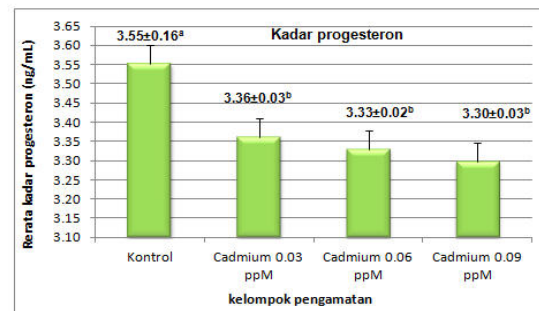
Metode Analisa Data

Pembuktian hipotesis penelitian menggunakan Analisa data diuji dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, uji *Anova One Way* (uji F), uji analisis regresi linier sederhana, dan uji korelasi *Pearson*. Di analisis dengan menggunakan *soft-ware SPSS (Statistical Product And Servise Solution) for Windows 19.0*.

HASIL

Uji perbandingan kadar progesteron

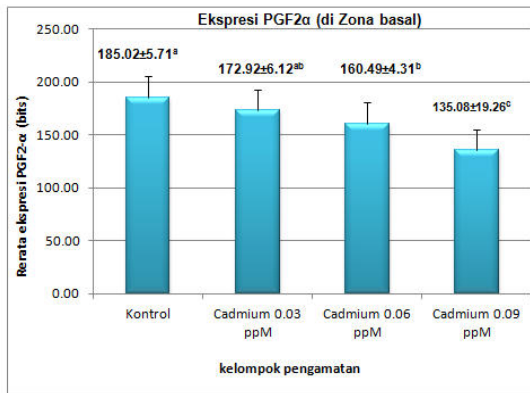
Data hasil uji *Anova one way* menunjukkan perbedaan yang signifikan pada rerata kadar progesteron keempat kelompok sampel pengamatan dengan nilai *p-value* = 0.000<0.05, sehingga pemberian *Cadmium Acetate Dihydrated* dengan konsentrasi 0,03; 0,06; 0,09 ppM mampu menurunkan kadar progesteron serum tikus wistar betina. Uji LSD menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan antar konsentrasi sehingga semua konsentrasi mempunyai kemampuan yang sama dalam menurunkan kadar progesteron serum tikus wistar betina,



Gambar 1. Grafik nilai mean \pm standart deviasi kadar progesteron dengan perlakuan konsentrasi kadmium bertingkat

Uji perbandingan ekspresi PGF2α di zone basal.

Uji *Anova one way* pada data ekspresi PGF2α di zone basal diperoleh ada perbedaan yang bermakna peningkatan rerata ekspresi PGF2α keempat kelompok sampel pengamatan dengan nilai *p-value* = 0.009 < 0.05. Uji *LSD* tidak ada perbedaan yang bermakna pada peningkatan rerata ekspresi PGF2α antara kelompok kontrol (185.02±5.71^a bits) dengan kelompok perlakuan pemberian Kadmium konsentrasi 0.03 ppM (172.92±6.12^{ab} bits)



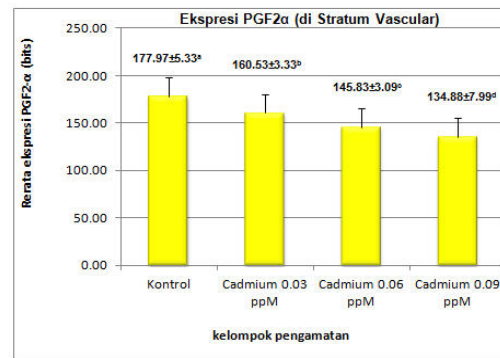
Gambar 2. Grafik nilai mean ± standart deviasi ekspresi PGF2α zona basal dengan perlakuan konsentrasi kadmium bertingkat

Sedangkan konsentrasi 0.09ppM (135.08±19.26^c bits) dianggap lebih mampu mempercepat penurunan skala intensitas warna yang menunjukkan ekspresi PGF2α di zona basal bila dibandingkan dengan konsentrasi yang lain.

Uji perbandingan ekspresi PGF2α di Stratum Vascular

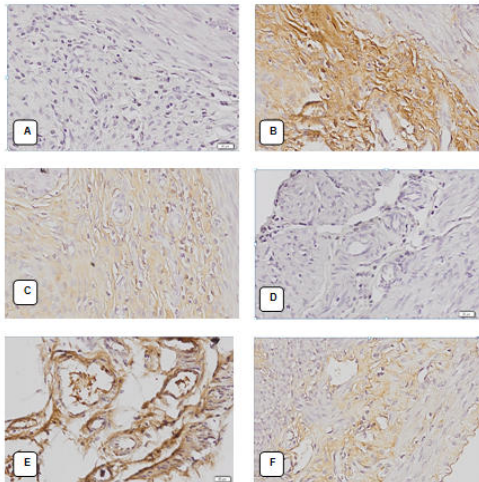
Berdasarkan hasil uji *Anova one way* pada data ekspresi PGF2α di stratum vascular ada perbedaan yang bermakna rerata ekspresi PGF2α keempat kelompok sampel pengamatan dengan nilai *p-value* = 0.000<0.05 menunjukkan ada pengaruh pemberian Kadmium berbagai konsentrasi

terhadap peningkatan ekspresi PGF2α pada miometrium tikus betina Wistar. Uji *LSD* uji perbandingan berganda dengan uji *LSD* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata ekspresi PGF2α di stratum vascular antara kelompok kontrol (177.97±5.33^a bits) dengan kelompok perlakuan pemberian Kadmium konsentrasi 0.03 ppM (160.53±3.33^b bits), juga berbeda dengan konsentrasi 0.06 ppM (145.83±3.09^c bits), dan dengan konsentrasi 0.09 ppM (134.88±7.99^d bits).



Gambar 3. Grafik nilai mean ± standart deviasi ekspresi PGF2α zona basal dengan perlakuan konsentrasi kadmium bertingkat

Hal ini menunjukkan ada pengaruh pemberian Kadmium berbagai konsentrasi terhadap ekspresi PGF2α pada miometrium tikus betina galur Wistar yaitu mampu menurunkan skala intensitas warna yang menunjukkan ekspresi PGF2α di stratum vascular. konsentrasi 0.09 ppM mempunyai kemampuan paling cepat dalam menurunkan skala intensitas warna yang menunjukkan ekspresi PGF2α pada stratum vascular miometrium. Hasil immunohistokimia ekspresi PGF2α uterus di zona basal dan stratum vascular ditunjukkan pada Gambar 4.



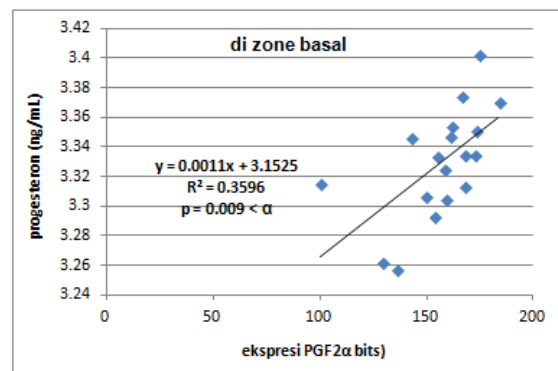
Gambar 4. Gambaran ekspresi PGF2α Uterus tikus betina galur wistar dengan pembesaran 200x :

- A. Zona Basal Endometrium : Kontrol negatif tanpa pengecatan Prostaglandin F2α tidak ada warna coklat.
- B. Peningkatan ekspresi Prostaglandin F2α positif (sel basalis endometrium berwarna coklat kuat dengan range intensitas 100,07 –131,06 bits
- C. Penurunan ekspresi Prostaglandin F2α positif (sel basalis endometrium) berwarna coklat lemah dengan range intensitas 132,06 – 162,06 bits
- D. Stratum Vaskuler Miometrium : Kontrol negatif tanpa pengecatan Prostaglandin F2α tidak ada warna coklat.
- E. Peningkatan ekspresi Prostaglandin F2α positif (Stratum vaskuler miometrium) berwarna coklat kuat dengan range intensitas 100,07 –131,06 bits
- F. Penurunan ekspresi Prostaglandin F2α positif (Stratum vaskuler miometrium) berwarna coklat lemah dengan range intensitas 163,06 – 193,06 bits

Uji analisis regresi pengaruh ekspresi PGF2α terhadap kadar progesteron.

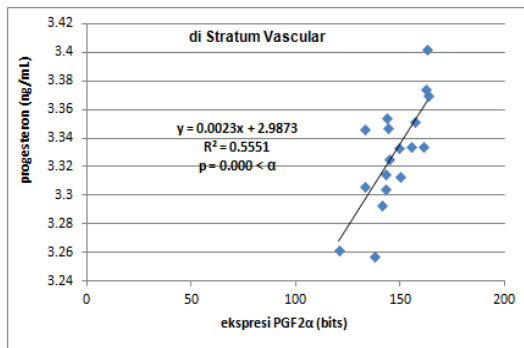
Hasil analisis regresi diperoleh ada pengaruh yang sangat bermakna antara ekspresi PGF2α di zone basal terhadap kadar progesteron serum tikus betina

galur Wistar dengan persamaan regresi linier yaitu $\hat{y} = 0.001x + 3.152$ atau progesteron = 0.001(ekspresi_PGf2α) + 3.152 dengan $p\text{-value} = 0.009 < \alpha$ sedangkan prosentase pengaruh ekspresi PGF2α di zone basal terhadap penurunan kadar progesteron adalah koefisien korelasi $R^2 = 0.3596$. Hal ini berarti bahwa dalam penelitian ini kadar progesteron pada serum tikus betina galur Wistar dipengaruhi oleh ekspresi PGF2α di zone basal sebesar 36%.



Gambar 5. Persamaan regresi pengaruh ekspresi PGF2α di zone basal terhadap kadar progesteron

Hasil analisis regresi juga diperoleh ada pengaruh yang sangat bermakna antara ekspresi PGF2α di stratum vascular terhadap kadar progesteron pada serum tikus betina galur Wistar. Hal ini ditunjukkan dengan model persamaan regresi linier yaitu $\hat{y} = 0.002x + 2.987$ atau progesteron = 0.002 (ekspresi_PGf2α)+2.987 dengan $p\text{-value} = 0.000 < \alpha$ sedangkan prosentase pengaruh ekspresi PGF2α di stratum vascular terhadap penurunan kadar progesteron adalah koefisien korelasi $R^2 = 0.5551$ Hal ini berarti dalam penelitian ini kadar progesteron pada serum tikus betina galur wistar dipengaruhi oleh ekspresi PGF2α di Stratum Vascular sebesar 55%.



Gambar 6. Persamaan regresi pengaruh ekspresi PGF2α di Stratum Vascular terhadap kadar progesteron

PEMBAHASAN

Dismenore primer adalah karena produksi Prostaglandin (PG). PG adalah senyawa seperti hormon yang berfungsi sebagai mediator dari berbagai respon fisiologis seperti peradangan, kontraksi otot, pelebaran pembuluh darah, dan agregasi trombosit. Prostaglandin adalah bentuk modifikasi dari asam lemak tak jenuh, melalui jalur siklooksigenase, yang disintesis di hampir semua sel-sel tubuh (Buddhakala.2007). Studi menunjukkan bahwa berbagai tingkat PG dalam saluran reproduksi wanita mempengaruhi siklus regresi korpus luteum dan pelepasan endometrium. PG mungkin memediasi efek hormon luteinizing pada ovulasi (Buddhakala.2007). Diduga adanya peningkatan sintesis prostaglandin karena toksisitas kadmium yang masuk ke sel melalui transport *mimicry ionic* kalsium (Thévenod.2008). Penelitian ini membuktikan penurunan kadar Progesteron Serum sesuai dengan penelitian Henson dan Chedrese, 2004; Massanyi *et al.*, 2005 produksi tertinggi progesteron (44.30 ± 6.00 ng/mL) ditemukan dalam pengobatan tipe B pada invivo ketika dosis CdCl₂ meningkat menjadi 20 ng produksi progesteron menurun menjadi $34,94 \pm 6,51$ ng/mL Pada mimikri ion kalsium Cd²⁺ dalam sel granulosa ovarium dapat mengurangi FSH dalam proses mengikat reseptor FSH (Priya *et al.*, 2004; Chedrese

et al., 2006)_dengan mekanisme adanya gangguan pada frekuensi dan amplitudo sekresi LH selama fase folikuler yang berperan mengatur fungsi fase luteal berikutnya dan mengatur peran regulasi LH yang konsisten selama fase luteal maka dengan menurunnya tingkat FSH selama fase folikuler dapat menyebabkan fase luteal diperpendek dan terjadi pengembangan corpus luteal (Carr, Beshay, 2011). Diduga mekanisme peroksidasi lipid kadmium mampu mengurangi produksi progesteron dengan mengganggu fungsi enzim steroidogenik, sitokrom P450 (P450_{scc}) dan 3β-dehidrogenase hydroxysteroid (3β-HSD) yang penting untuk sintesis progesteron (Henson dan Chendrese, 2004). Pada paparan invivo ketika diberikan 5,0 mg/kg CdCl₂ yang diberikan pada fase proestrus selama 30 hari ada penurunan yang signifikan (*P value* < 0,05) tingkat serum progesteron. Sedangkan CdCl₂ dengan konsentrasi 10.0 mg/kg pada fase diestrus ada penurunan yang signifikan pada progesteron serum. Perlakuan yang terakhir menunjukkan bahwa pemberian CdCl₂ dekat dengan lonjakan LH lebih jelas menunjukkan terjadinya penghambatan serum progesterone (Massanyi *et al.*, 2005) Sedangkan dari hasil penelitian ini membuktikan penurunan kadar progesteron tidak tergantung konsentrasi *Cadmium Acetate dihydrate*, hasil ini berbeda dengan penelitian – penelitian yang sudah ada yang berkaitan dengan besaran konsentrasi kadmium.

Hasil penelitian ini membuktikan ada peningkatan ekspresi PGF2α di zona basal dan stratum vascular diduga Kadmium secara luas didistribusikan dalam tubuh berkaitan dengan sel darah merah (Godt *et al.*, 2006) dan transportasi Kadmium *mimicry* Kalsium menggunakan ATP dan penyerapan Kadmium ke jaringan atau organ sasaran dengan endositosis protein dengan mekanisme epitel mengangkut Cd ion untuk masuk ke

jaringan atau organ target sehingga konjugat yang telah terbentuk memiliki kecenderungan sebagai substrat (reseptor endocytotic) yang merupakan media untuk transportasi (Zalups, Ahmad, 2002). Bukti bahwa transporter logam divalen protein memainkan peran penting dalam penyerapan *Cadmium gastrointestinal* (Kantserova *et al.*, 2012) dinyatakan bahwa penelitian pada tikus *knock out* (KO) menunjukkan bahwa protein transporter lain terlibat dalam penyerapan Kadmium. Menurut bukti eksperimental menunjukkan saluran Ca dapat berfungsi sebagai saluran molekuler yang memungkinkan ion Cd ekstraseluler *reflux* intraseluler pada jaringan atau sel epitel (Zalups, Ahmad, 2002). Lapisan epitel endometrium dan endotheliumnya berperan sebagai sensor secara dinamis menghadapi perubahan lingkungan eksternal dan regulator pada peristiwa fisiologis dan patologis yang berbeda, salah satu bentuk pertahanan dengan adanya kaskade sinyal pelepasan PG diduga hal ini memicu otot polos uterus berkontraksi, menurunkan aliran darah di endometrium, meningkatkan hipersensitivitas saraf tepi dan degradasi lapisan jaringan endometrium (Ye Chun Ruan *et al.*, 2011) selanjutnya aksi prostaglandin melalui komunikasi lokal yaitu komunikasi yang terjadi melalui zat kimia yang dilepaskan ke cairan ekstrasel untuk berkomunikasi dengan sel lain yang berdekatan (sinyal parakrin) atau sel itu sendiri (sinyal autokrin).

Penelitian ini membuktikan adanya peningkatan ekspresi PGF2 α jaringan endometrium Zona Basal dapat mengakibatkan penurunan kadar progesteron dalam serum tikus betina galur wistar sebesar 36% dan 55% pada ekspresi PGF2 α miometrium stratum vascular. Penelitian yang mendukung dilakukan (Tsai *et al.*, 2001) pengobatan Corpus Luteum dengan PGF2a akan menyebabkan translokasi dan aktivasi cPLA₂

melalui sejumlah jalur intraseluler yang memungkinkan pembebasan asam arakidonat dari membran fosfolipid. Selain itu PGF2a juga mengatur protein StAR langsung, pada penelitian CL tikus, protein StAR menurun 1 jam setelah pengobatan PGF2 α , sedangkan StAR mRNA tidak berubah konsentrasinya secara fisiologis. Goyer (1996) menegaskan bahwa progesteron harus terus menerus ditinggikan untuk mencegah pengurangan akut pada progesteron yang memungkinkan kontraktibilitas uterus mendadak dan kehilangan kehamilan (Diaz *et al.*, 2000). Menurut Fortier *et al.*, 2008 sel-sel epitel melepaskan sel stroma PGF2 dan PGE2. PG kemudian beraksi pada sel-sel tetangga untuk mengatur fungsi endometrium atau perjalanan di seluruh sel dan jaringan untuk mencapai ovarium dan menimbulkan efek luteolitik atau *luteotrophic* untuk mengatur produksi progesteron.

KESIMPULAN

Cadmium Acetate Dihydrate dengan konsentrasi 0.03; 0.06; 0.09ppM dapat menurunkan kadar progesteron dan meningkatkan ekspresi PGF2 α uterus tikus betina galur wistar dimana dengan adanya peningkatan ekspresi PGF2 α uterus mampu menurunkan kadar progesteron serum.

DAFTAR PUSTAKA

- Buddhakala N. (2007) *Physiological Study Of The Effects Of Ginger Oil On Rat Uterine Contraction*. Suranaree University Of Technology.
- Ballatori N. (2003) *Transport of Toxic Metals by Molecular Mimicry*, New York, USA
- Carr RB and Beshay EV, 2011 dalam Yen and Jaffe's *Reproductive Endocrinology*, 7th Edition Copyright 2014 Elsevier.

- Dawood, MY and Khan-Dawood, Firyal S.(2007) *Clinical efficacy and differential inhibition of menstrual fluid prostaglandin F2 α in a randomized, doubleblind, crossover treatment with plasebo, acetaminophen, and ibuprofen in primary dysmenorrhea. American Journal of Obstetrics & Gynecology* Volume 196, Issue 1 Pages 35.e1-35.e5.
- F.J. Diaz a, L.E. Anderson a, Y.L. Wua, A. Rabot a, S.J. Tsai b, M.C. Wiltbank a. (2002) *Regulation of progesterone and prostaglandin F2a production in the CL. Molecular and Cellular Endocrinology* 191 (2002) 65_80
- Fortier, M.A., Krishnaswamy, K., Danyod, G.(2008) *A Postgenomic integrated view of prostaglandin: Implication for other body sistems. Journal of Physiology and Pharmacology*; 59, Suppl 1, 65-89.
- Godt J et al., 2006 *The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health* University of Berlin, Germany.
- Goyer R.A. (1996) *Toxic Effects Of Metals. In Casarett And Doull's Toxicology. The Basic Sciencie Of Poison.* Fifth Edition, Klaassen, C.D Edition Mc Graw-Hill Health Professios Division.
- Gill G: *Biosynthesis, secretion, and metabolism of hormones . In: Endocrinology and Metabolism*, 2nd ed. McGraw-Hill, 1987; 11 – 32. 2.
- Harel, Zeev MD. (2006) *Dysmenorrhea in Adolescents and Young Adults: Etiology and Management .J Pediatr Adolesc Gynecol* 19:363-371
- Henson M.C and Chedrese J.(2000) *Endocrine Disruption by Cadmium, a Common Environmental Toxicant with Paradoxical Effects on Reproduction.* Canada
- Kantserova Np et al.,2012 *Correlation of intracellular Ca(2+)-dependent protein ase activity and the content of membrane lipid components in mussel, Mytilus edulis, under heavy metal accumulation.*
- Laporan Praktik Kebidanan komunitas, 2010. Mahasiswa Politeknik Kesehatan Kalimantan Timur di Kecamatan Sanga – Sanga Kabupaten Kutai Kartanegara.
- Massanyi P, Lucac N, et al., (2007) *Female Reproductive Toxicology of Cadmium. Acta Biologica Hungarica* 58 (3), pp. 287–299
- Thevenod F. 2010 *Catch Me If You Can! Novel Aspects of Cadmium Transport in Mammalian cells.*
- Ye Chun Ruan,Wenliang Zhou, and Hsiao Chang Chan. 2011 *Regulation of Smooth Muscle Contraction by the Epithelium: Role of Prostaglandins*, Hong Kong.
- Zhiang et al., (2010) *Rat Ovarian Follicle Bioassay Reveals Adverse Effects Of Cadmium Chloride (CdCl2) Exposure On Follicle Development And Oocyte Maturation.Toxicology And Industrial Health.* SAGE.