

## BLOOD NITRIC OXIDE LEVEL INCREASES IN ANAEMIC FIRST TRIMESTER PREGNANT WOMEN

Yadul Ulya<sup>1</sup>, Aryadi Arsyad<sup>2</sup>, Saidah Syamsuddin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Midwifery, College of Health Science, Yarsi Mataram

<sup>2</sup> Department of Physiology, Faculty of Medicine, Hasanuddin University

<sup>3</sup>Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, Hasanuddin University

Correspondence author:

**Yadul Ulya**

Department of Midwifery, College of Health Science, Yarsi Mataram

Email: [yadul.ulya90@yahoo.com](mailto:yadul.ulya90@yahoo.com)

### Article Info:

Received: 25 September 2018

Revised: 25 October 2018

Accepted: 30 November 2018

Available online: 31 December 2018

**Keywords:** *Anemia, First trimester pregnancy, Nitric Oxide*

**DOI:** *10.20956/nmsj.v3i2.5779*

### Abstract

**Introduction:** Anemia during pregnancy has an adverse effect on both mother and fetus, as the lack of haemoglobin can reduce the oxygen supply of maternal metabolism due to the reduction of bound oxygen, and disturb the role of hemoglobin as a binder of nitric oxide that can cause vasoconstriction and affect oxygen delivery. Studies also show that NO plays crucial role in maintaining pregnancy. The study aimed to investigate the differences of nitric oxide content among first trimester pregnant women with anemia and without anemia.

**Methods:** This was a cross sectional study design consisting of women within the first trimester of pregnancy, with 35 women enrolled in both the anaemic and the non-anaemic group, all recruited through consecutive sampling.

**Results:** The research result indicates that the average blood nitric oxide level of first-trimester pregnant women with anemia was significantly higher (128.8 $\mu$ mol/L) than the non-anemia group (89.1 $\mu$ mol/L) with p value of 0.008. First trimester anaemic women were found to have a 3.692 higher risk of undergoing nitric oxide increase compared to the non-anaemic pregnant women with a cut-off point of 92.86 $\mu$ mol/L.

**Conclusion:** It was concluded that blood nitric oxide level was higher among anaemic pregnant women within the first trimester, and have a 3.962 times higher risk of undergoing nitric oxide increase.

## PENDAHULUAN

Menurut WHO 40 % kematian ibu di negara berkembang berkaitan dengan anemia pada kehamilan dan kebanyakan anemia dalam kehamilan disebabkan oleh defisiensi besi dan perdarahan akut, bahkan tidak jarang keduanya saling berinteraksi.<sup>1</sup>

Dalam studi yang dilakukan Fatemeh di Iran, prevalensi anemia pada ibu hamil trimester

pertama sebesar 5%, sebanyak 3,4% pada trimester kedua dan sebanyak 8,7% pada trimester ketiga dari 104 ibu hamil anemia. Prevalensi anemia yang diamati dalam penelitian ini mencerminkan perubahan kadar hemoglobin selama kehamilan. Kadar hemoglobin mulai menurun selama fase awal trimester pertama dan mencapai titik maksimal mengalami penurunan pada akhir trimester kedua.<sup>2</sup>

Anemia pada saat hamil dapat mengakibatkan efek yang buruk baik bagi ibu hamil maupun bagi janin. Anemia dapat mengurangi suplai oksigen pada metabolisme ibu karena kekurangan kadar hemoglobin untuk mengikat oksigen yang dapat mengakibatkan efek tidak langsung pada ibu dan janin antara lain terjadi abortus, selain itu ibu lebih rentan terhadap infeksi dan kemungkinan bayi lahir premature.<sup>1</sup>

Abortus merupakan komplikasi yang sering terjadi pada awal kehamilan. Penelitian oleh Hanita & Hanisah, didapatkan bahwa terdapat penurunan kadar progesteron pada pasien abortus dibandingkan dengan kehamilan normal dan tes serum progesteron dapat digunakan sebagai tanda untuk menilai kegagalan awal kehamilan.<sup>3</sup>

Penurunan kadar progesteron ini menyebabkan pelepasan *nitric oxide* (NO) pada endometrium dan serviks serta aktivasi sitokin. Dari beberapa penelitian didapatkan bahwa progesteron memiliki efek yang berlawanan dengan pelepasan *nitric oxide* endometrium dan serviks. Pelepasan *nitric oxide* serviks berhubungan terbalik dengan konsentrasi sirkulasi progesteron pada kehamilan awal yang belum viable. Insufisiensi progesterone menstimulasi pelepasan *nitric oxide* serviks yang menyebabkan pematangan serviks dan abortus. Pada wanita dengan missed abortion atau blighted ovum, dapat terdeteksi median kadar *nitric oxide* serviks yang lebih tinggi yaitu 59,4  $\mu\text{mol/L}$  pada missed abortion dan 25,6  $\mu\text{mol/L}$  pada blighted ovum dibandingkan dengan wanita hamil awal yang viable yaitu 4,3  $\mu\text{mol/L}$ .<sup>4</sup>

*Nitric oxide* (NO) tampaknya merupakan unsur penting dalam reproduksi dan kehamilan. *Nitric oxide* berperan pada berbagai fungsi reproduksi wanita. *Nitric oxide* mengatur fungsi-fungsi endometrium, seperti reseptivitas endometrium, implantasi dan menstruasi. *Nitric oxide* memperantarai perubahan arteri spiralis pada desidualisasi, dan membantu implantasi embrio. Produksi *nitric oxide* sangat penting untuk mempertahankan kehamilan. Pada perkembangan embrionik preimplantasi awal, *nitric oxide* mengatur pembelahan mitotik.<sup>4</sup>

Ketersediaan *nitric oxide* pada tingkat jaringan salah satunya diatur oleh hemoglobin sebagai buffer dan pembawa dari *nitric oxide*. Hemoglobin memiliki peran ganda dalam pengaturan keberadaa *nitric oxide* yaitu mengikat bioaktivitas *nitric oxide* menjadi bentuk *methemoglobin* (metHB) dan *iron-nitrosyl-hemoglobin* (HbNO) dan memproduksi *nitric*

*oxide* melalui reduksi nitrit. Hemoglobin juga berperan sebagai pengikat *nitric oxide* yang poten karena adanya reaksi yang cepat pada proses oksigenasi dan deoksigenasi, dengan tingkat kinetik hanya dibatasi oleh difusi. Ikatan ini yang menyebabkan vasokonstriksi dan mempengaruhi pengiriman oksigen.<sup>5</sup>

Hasil penelitian Choi, mengatakan pada perempuan usia 14-19 tahun yang mengalami anemia berat (Hb < 8 g/dl) mengalami peningkatan kadar *nitric oxide* 7.5 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan Hb  $\geq$  14 g/dl dan dapat kembali normal dengan pemberian suplement zat besi.<sup>6</sup>

Berdasarkan uraian di atas, diketahui bahwa anemia pada awal kehamilan dapat menyebabkan abortus dan terjadinya abortus pada awal kehamilan dapat disebabkan oleh penurunan progesteron yang menstimulasi pelepasan *nitric oxide*. Kadar *nitric oxide* menurut penelitian dapat dipengaruhi oleh hemoglobin karena hemoglobin berperan sebagai pengikat *nitric oxide*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar *nitric oxide* pada ibu hamil trimester 1 dengan anemia dan tidak anemia.

## METODE

### *Lokasi dan Rancangan Penelitian*

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dengan nomor: 128/H.4.8.4.5.31/PP36-KOMETIK/2017. Lokasi penelitian di wilayah kerja Puskesmas Batua Kota Makassar. Penelitian ini menggunakan desain *cross sectional study*. Dalam penelitian ini akan menggunakan 2 kelompok yaitu kelompok ibu hamil trimester 1 yang anemia dan kelompok ibu hamil trimester 1 yang tidak anemia.

### *Populasi dan Sampel*

Populasi dalam penelitian ini adalah semua ibu hamil trimester 1 yang anemia dan ibu hamil trimester 1 yang tidak anemia di wilayah kerja Puskesmas Batua Kota Makassar. Jumlah sampel sebesar 70 orang dengan teknik *consecutive sampling* yang memenuhi kriteria inklusi yaitu usia kehamilan 1-12 minggu, haid pertama dan haid terakhir jelas, umur ibu hamil 20-35 tahun, dan bersedia menjadi responden dengan menandatangani *informed consent* yang telah

dikeluarkan oleh Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

## HASIL

### Metode Pengumpulan Data

Pemeriksaan Hb dengan metode digital (*hemoglobin testing system Quik-Check*) untuk menentukan diagnosa anemia dan tidak anemia. Pemeriksaan kadar *nitric oxide* menggunakan *Colorimetric Griess* dengan metode *Elisa*.

### Analisis Data

Dalam penelitian ini distribusi data normal dengan menggunakan uji statistik *Kolmogorov Smirnov*. Uji analisis menggunakan uji *Mann Whitney* dan *Chi Square* diolah dengan menggunakan *SPSS For Windows 20*.

### Karakteristik Responden

Hasil analisis pada tabel 1 terlihat bahwa rerata usia responden dari kedua kelompok (anemia dan tidak anemia) adalah 27 tahun. Paling banyak tingkat pendidikan dari kelompok ibu hamil trimester 1 yang anemia adalah SMA-PT (68,6%) dan kelompok ibu hamil trimester 1 yang tidak anemia adalah SD-SMP (51,4%). Kedua kelompok sebagian besar menyatakan tidak bekerja (74,2%). Lingkar lengan atas (LILA) paling banyak dari kedua kelompok adalah  $\geq 23,5$  cm (85,7%). Nulipara adalah paritas paling besar pada kedua kelompok (47,1%) dan sebagian besar dari kedua kelompok tidak ada yang memiliki riwayat abortus (85,7%).

**Tabel 1. Karakteristik ibu hamil pada trimester 1**

| Karakteristik                     | Tidak Anemia |              | Anemia |              | p      |
|-----------------------------------|--------------|--------------|--------|--------------|--------|
|                                   | Mean±S       | n (%)        | Mean±S | n (%)        |        |
|                                   | D            |              | D      |              |        |
| Umur (tahun)                      | 27,6±4,5     |              | 26,5±  |              | 0,331* |
|                                   | 1            |              | 5,09   |              |        |
| Pendidikan                        |              |              |        |              |        |
| ▪ Rendah<br>(SD-SMP)              |              | 18<br>(51,4) |        | 11<br>(31,4) | 0,145* |
| ▪ Menengah-<br>Tinggi<br>(SMA-PT) |              | 17<br>(48,6) |        | 24<br>(68,6) | *      |
| Pekerjaan                         |              |              |        |              |        |
| ▪ Tidak bekerja                   |              | 25<br>(71,4) |        | 27<br>(77,1) | 0,784* |
| ▪ Bekerja                         |              | 10<br>(28,6) |        | 8 (22,9)     | *      |
| LILA                              |              |              |        |              |        |
| ▪ < 23,5 cm                       |              | 5 (14,3)     |        | 5 (14,3)     | 1,000* |
| ▪ $\geq 23,5$ cm                  |              | 30<br>(85,7) |        | 30<br>(85,7) | *      |
| Paritas                           |              |              |        |              |        |
| ▪ Nulipara                        |              | 17<br>(48,6) |        | 16<br>(45,7) | 0,956* |
| ▪ Primipara                       |              | 9 (25,7)     |        | 10<br>(28,6) | *      |
| ▪ Multipara                       |              | 9 (25,7)     |        |              |        |

|                 |          |          |          |  |
|-----------------|----------|----------|----------|--|
|                 |          |          | 9 (25,7) |  |
| Riwayat abortus |          |          |          |  |
| ▪ Tidak         | 29       | 31       | 0,733*   |  |
| ▪ Ya            | (82,9)   | (88,6)   | *        |  |
|                 | 6 (17,1) | 4 (11,4) |          |  |

\*Uji *Mann Whitney*

\*\*Uji *Chi Square*

Sumber : Data Primer 2017

**Tabel 2. Perbedaan kadar NO ( $\mu\text{mol/L}$ ) ibu hamil trimester 1 antara kelompok anemia dan tidak anemia**

|                 |    | NO                |           |        |
|-----------------|----|-------------------|-----------|--------|
| Kelompok anemia | n  | Mean $\pm$ SD     | Beda Mean | p      |
| Tidak anemia    | 35 | 89,1 $\pm$ 40,76  | 39,7      | 0,008* |
| Anemia          | 35 | 128,8 $\pm$ 70,10 |           |        |

\*Uji *Mann Whitney*

Sumber : Data Primer 2017

**Tabel 3. Perbedaan kadar NO ( $\mu\text{mol/L}$ ) ibu hamil trimester 1 yang anemia antara kelompok anemia ringan dan anemia sedang**

|                     |    | NO                |        |  |
|---------------------|----|-------------------|--------|--|
| Sub kelompok anemia | n  | Mean $\pm$ SD     | p      |  |
| Anemia ringan       | 27 | 120,8 $\pm$ 58,87 | 0,530* |  |
| Anemia sedang       | 8  | 155,7 $\pm$ 99,61 |        |  |

\*Uji *Mann Whitney*

Sumber : Data Primer 2017

**Tabel 4. Hubungan anemia dengan Kadar NO ( $\mu\text{mol/L}$ ) tinggi pada ibu hamil trimester 1**

|        |              | NO Tinggi      |       |       |                 |
|--------|--------------|----------------|-------|-------|-----------------|
| Anemia | Ya<br>n (%)  | Tidak<br>n (%) | p     | OR    | 95% CI          |
| Ya     | 24<br>(64,9) | 11<br>(33,3)   | 0,017 | 3,692 | 1,372-<br>9,933 |
| Tidak  | 13<br>(35,1) | 22<br>(66,7)   |       |       |                 |

Uji *Chi Square*

Sumber : Data Primer 2017

### ***Kadar Nitric Oxide pada Ibu Hamil Trimester 1***

Terlihat dari tabel 2, kadar *nitric oxide* pada ibu hamil trimester 1 yang anemia berbeda dengan ibu hamil trimester 1 yang tidak anemia dengan nilai  $p=0.008$  dan beda mean 39,7  $\mu\text{mol/L}$ . Karena adanya perbedaan kadar *nitric oxide* antara ibu hamil trimester 1 yang anemia dan tidak anemia, maka dianalisis kadar *nitric oxide* pada

derajat anemia ibu hamil trimester 1 (anemia ringan dan anemia sedang) dan ternyata tidak berbeda antara ibu hamil trimester 1 yang anemia ringan dan anemia sedang dengan nilai  $p=0.530$ .

Untuk melihat seberapa banyak kadar *nitric oxide* yang tinggi dan tidak tinggi pada ibu hamil trimester 1, maka ditentukan *cut off point* pada kadar *nitric oxide* dengan menggunakan ROC Curve dan hasilnya diketahui area *cut off*

*point* berada pada area 0.683 dengan sensitivitas 68.6% dan spesifisitas 62.9% dengan *cut off point* 92.86  $\mu\text{mol/L}$ . Sehingga dapat dikatakan kadar *nitric oxide* tinggi jika  $\geq 92.86 \mu\text{mol/L}$  dan dikatakan tidak tinggi jika  $< 92.86 \mu\text{mol/L}$ .

Berdasarkan *cut off point* yang dibagi dalam kelompok kadar *nitric oxide* tinggi dan tidak tinggi, maka dianalisis kemungkinan resiko peningkatan kadar *nitric oxide* dengan melihat nilai OR pada ibu hamil trimester 1 yang anemia dengan kadar *nitric oxide* yang tinggi. Hasil analisis pada tabel 4 menunjukkan ibu hamil trimester 1 yang anemia kemungkinan (*odds*) 3.692 kali memiliki resiko mengalami peningkatan kadar *nitric oxide* dibandingkan pada ibu hamil trimester 1 yang tidak anemia.

## PEMBAHASAN

Pada hasil penelitian terlihat bahwa rata-rata kadar *nitric oxide* pada ibu hamil trimester 1 yang mengalami anemia lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak anemia dengan nilai  $p=0,008$ . Akan tetapi, pengaruh derajat anemia pada ibu hamil trimester 1 (anemia ringan dan anemia sedang) terhadap variasi kadar *nitric oxide* terlihat tidak berbeda pada ibu hamil trimester 1 dengan anemia yang kadar *nitric oxide* nya sudah tinggi. Asumsi peneliti bahwa, kemungkinan karena pada penelitian ini tidak ada ibu hamil trimester 1 yang mengalami anemia berat, sehingga kemungkinan jika diteliti menghasilkan perbedaan yang berarti pada kadar *nitric oxide* yang tinggi. Serta dengan melihat kemungkinan resiko peningkatan kadar *nitric oxide* pada ibu hamil trimester 1 yang anemia, ternyata ibu hamil trimester 1 yang anemia memiliki resiko 3.692 kali mengalami peningkatan kadar *nitric oxide*.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Deokar, dengan subjek 30 pasien anemia defisiensi besi (bukan pada ibu hamil) usia 20-50 tahun dan 30 kontrol sehat didapatkan bahwa terdapat peningkatan yang signifikan pada kadar *nitric oxide* dalam subjek penelitian dibandingkan pada kelompok kontrol ( $p<0,001$ ).<sup>7</sup>

Pada wanita hamil terjadi perubahan hematologis berupa peningkatan volume darah ibu, penurunan hemoglobin dan hematokrit. Konsentrasi hemoglobin dan hematokrit sedikit menurun selama kehamilan normal walaupun terdapat peningkatan eritropoesis. Jika dibandingkan dengan peningkatan volume plasma, peningkatan volume eritrosit sirkulasi

tidak begitu banyak, sekitar 450 ml atau 33%. Akibatnya viskositas darah secara keseluruhan menurun.<sup>8</sup>

Penelitian Amburgey menunjukkan bahwa peningkatan volume plasma, sel darah merah dan kadar hemoglobin berhubungan dengan ekspansi volume plasma, ketika volume plasma dan sel darah merah berhubungan secara signifikan dengan kadar hemoglobin ibu selama kehamilan.<sup>9</sup>

*Nitric oxide* memainkan peran penting dalam berbagai proses fisiologis termasuk regulasi tekanan darah, agregasi platelet, neurotransmisi, dan sitotoksitas makrofag. Banyak efek *nitric oxide* (misalnya regulasi tekanan darah dan agregasi trombosit) dimediasi melalui *nitric oxide* yang mengikat besi di kelompok prostetik heme dari *guanylate cyclase*, yang secara nyata mengaktifkan enzim dan dengan demikian meningkatkan konsentrasi intraselular dari cGMP utusan kedua. *Nitric oxide* memiliki afinitas yang sangat tinggi untuk heme besi dengan sebuah konstanta yang mengikat pada urutan  $10^{12}$  sampai  $10^{14} \text{ M}^{-1}$ , dan *nitric oxide* juga mengikat ke besi heme.<sup>10</sup>

Produksi *nitric oxide* berlebihan dapat meningkatkan pengaktifkan enzim *guanylate cyclase* yang dapat menimbulkan efek negatif, antara lain ketidakaktifan enzim tertentu, induksi protein penyebab stres bahkan kerusakan DNA.<sup>11</sup>

Hemoglobin memiliki peran ganda dalam pengaturan keberadaan *nitric oxide* yaitu mengikat bioaktivitas *nitric oxide* menjadi bentuk *methemoglobin* (metHB) dan *iron-nitrosyl-hemoglobin* (HbNO) dan memproduksi *nitric oxide* melalui reduksi nitrit. Ikatan membentuk *methemoglobin* (Hb<sup>+</sup>) dan proses oksidasi/siklus reduksi melepaskan heme juga diperkirakan menjadi penyebab pemakaian *nitric oxide*, terutama antara endotel dan otot polos. Pada keadaan normal, *methemoglobin* ada dalam jumlah yang kecil pada bagian ekstraselular hemoglobin ( $\leq 5-20\%$ ) dan affinity *nitric oxide* terhadap Hb<sup>+</sup> memungkinkan secara fisiologis untuk mengikat. Heme yang dilepaskan oleh *methemoglobin* cukup lambat, dimana respon terjadinya vasokonstriksi sangat cepat.<sup>5</sup>

Dalam studi yang dipublikasikan, kadar *nitric oxide* pada anemia dengan defisiensi besi dan anemia aplastik ditemukan meningkat. Di sisi lain, dalam penelitian lain, ketersediaan *nitric oxide* pada thalassemia dan anemia sel sabit dilaporkan mengalami penurunan yang subjek penelitiannya bukan pada ibu hamil.<sup>10</sup> Dalam studi ini yang menggunakan subjek ibu hamil,

ditemukan bahwa kadar *nitric oxide* lebih tinggi pada ibu hamil yang mengalami anemia.

Selama awal kehamilan, keseimbangan *nitric oxide* sangat penting untuk menjaga ketenangan rahim, dengan efek parakrin. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa peningkatan produksi *nitric oxide* menginduksi penghambatan perkembangan janin, menyebabkan timbulnya keguguran.<sup>12</sup> Begitu pula pada anemia saat hamil yang dapat mengakibatkan efek yang buruk baik bagi ibu hamil maupun bagi janin. Anemia dapat mengurangi suplai oksigen pada metabolisme ibu karena kekurangan kadar hemoglobin untuk mengikat oksigen yang dapat mengakibatkan efek tidak langsung pada ibu dan janin antara lain terjadi abortus, selain itu ibu lebih rentan terhadap infeksi dan kemungkinan bayi lahir premature.<sup>1</sup>

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa produksi *nitric oxide* yang tinggi mungkin memainkan peran penting pada awal abortus spontan dan abortus berulang. Rafaelli dkk mengatakan bahwa terjadi peningkatan kadar *nitric oxide* baik pada pasien yang mengalami

abortus spontan dan pada wanita hamil dengan riwayat abortus berulang dibandingkan dengan kelompok kontrol. Subjek penelitian yang digunakan yaitu pasien yang mengalami abortus spontan dan abortus berulang pada trimester pertama.<sup>12</sup>

Dari penjelasan di atas, asumsi peneliti pada penelitian ini yaitu anemia pada ibu hamil trimester 1 dapat berisiko mengalami peningkatan kadar *nitric oxide* dan kadar *nitric oxide* yang tinggi merupakan peran penting pada terjadinya abortus spontan dan abortus berulang. Oleh karena itu, ibu hamil pada trimester 1 yang anemia dengan kadar *nitric oxide* tinggi, kemungkinan berisiko mengalami abortus jika anemia yang dialami oleh ibu hamil tidak segera ditangani. Sehingga, pemeriksaan kadar *nitric oxide* pada ibu hamil trimester 1 yang anemia kemungkinan dapat dijadikan deteksi dini untuk mencegah terjadinya abortus.

Pada penelitian ini, didapatkan bahwa kadar *nitric oxide* pada ibu hamil trimester 1 dengan anemia lebih tinggi dibandingkan pada ibu hamil trimester 1 yang tidak anemia.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar *nitric oxide* lebih tinggi pada ibu hamil trimester 1 yang anemia dan memiliki resiko terjadi peningkatan kadar *nitric oxide* pada ibu hamil trimester 1 yang anemia sebesar 3.692 kali. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kadar *nitric oxide* pada ibu hamil yang anemia baik pada trimester I, II, dan III dengan mengidentifikasi jenis anemia yang diderita oleh ibu hamil untuk melihat jenis anemia yang paling mempengaruhi kadar *nitric oxide* pada ibu hamil dan melihat sejauh mana anemia berpengaruh terhadap kadar *nitric oxide* dengan meninjau peningkatan atau penurunan kadar *nitric oxide pre* dan *post* anemia pada ibu hamil.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Nugraha MS. (2010). Catatan Kuliah Ginekologi dan Obstetri (OBGYN). Yogyakarta: Nuli Medika.
2. Fatemeh M., Nahid E., Sedigheh G., & Jamileh M. (2010). Prevalence of anemia risk factors in pregnant women in Kerman, Iran. *Iranian J Rep Med*, 8(2): 66-69.
3. Hanita O. & Hanisah AH. (2012). Potential use of single measurement of serum progesterone in detecting early pregnancy failure. *Malaysian J Pathol*, 34(1): 41-46.
4. Tommiska MV. (2006). Nitric oxide in human uterine cervix: role in cervical ripening [Academic dissertation]. Helsinki : Departement of Obstetrics and Gynecology, Medical Faculty of the University of Helsinki – Helsinki University Central Hospital. Available from: <http://ethesis.helsinki.fi>
5. Chen K., Pikhova B., Pittman RN., Schechter AN., & Popel AS. (2008). Nitric oxide from nitrite reduction by hemoglobin in the plasma and erythrocytes. NIH-PA Author Manuscript, 18(1): 47-60.
6. Choi JW., Pai SH., Kim SK., Ito M., Park CS., & Chan YN. (2002). Iron deficiency anemia increases nitric oxide production in healthy adolescent. *Annals Hematologi*, 61(1): 1-6.
7. Deokar SA., Rai PSK., Bakshi AA., & Rai AB. (2013). Study of biochemical markers in iron deficiency anemia. *Int J Res Med Sci*, 1(4): 541-544.
8. Cunningham FG., Gant NF., Leveno KJ., Gilstrap III LC., Hauth JC., & Wenstrom KD. (2013). *Obstetri Williams*. Jakarta: EGC.



9. Amburgey OA., Ing E., Badger GJ., & Bernstein IM. (2010). Maternal hemoglobin concentration and its association with birth weight in newborn of mother with preeclampsia. *J. Matern Fetal Med*, 22(9): 740-4.
10. Erkurt MA., Aydoğdu I., Bayraktar N., Kuku I., & Kaya E. (2009). The levels of nitric oxide in megaloblastic anemia. *Turk J Hematol*, 26: 197-200.
11. Devlin TM. (2008). *Biochemistry with Clinical Correlation*, 5th ed. Canada: Wiley-Liss, 407-88.
12. Raffaelli F., Nanetti L., Vignini A., Mazzanti L., Giannubilo SR., Curzi CM., Turi A., Vitali P., & Tranquilli AL. (2010). Nitric oxide platelet production in spontaneous miscarriage in the first trimester. *Fertility and Sterility*, 93(6).