

Artikel Penelitian

Peran Magnesium Sulfat dalam Menurunkan Kadar TNF- α dan IL-1 β pada Bayi Prematur

The Role of Magnesium Sulfate in Lowering TNF- α and IL-1 β levels on Premature Infants

Sri Sulistyowati, Ferri Waluyo WP, Supriyadi Hari R, Soetrisno

Bagian Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

ABSTRAK

Prematuritas menyebabkan mortalitas dan morbiditas neonatus yaitu *cerebral palsy* (CP), gangguan kognitif dan gangguan tingkah laku. Sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-1 β diduga secara signifikan meningkat pada bayi prematur. Magnesium sulfat (MgSO₄) diduga dapat sebagai neuroprotektor terhadap otak janin, melindungi jaringan terhadap aktivitas radikal bebas, sebagai vasodilator dari vasculature otak dan menurunkan sitokin proinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran MgSO₄ terhadap kadar TNF- α dan IL-1 β pada bayi prematur, menggunakan metode observasional analitik, *cross sectional* yang dilakukan pada bulan Januari-Desember 2015 di RSUD Dr. Moewardi Surakarta dan laboratorium Prodia Jakarta. Subjek penelitian berjumlah 40 yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dibagi menjadi 2 kelompok yaitu 20 subjek kelompok persalinan prematur yang mendapat MgSO₄ dan 20 subjek kelompok persalinan prematur tidak mendapat MgSO₄. Semua subjek dilakukan pemeriksaan kadar TNF- α dan IL-1 β pada serum dari darah tali pusat bayi pada saat lahir dengan menggunakan metode ELISA. Data dianalisis menggunakan uji t. Rerata kadar serum TNF- α pada kelompok persalinan prematur yang diberikan MgSO₄ (2,24 \pm 0,56ng/mL) dan rerata kadar serum TNF- α pada persalinan prematur yang tidak diberikan MgSO₄ (2,80 \pm 0,85ng/mL) dengan p=0,01 (p<0,05). Rerata kadar serum IL-1 β pada kelompok persalinan prematur yang diberikan MgSO₄ (0,49 \pm 0,22ng/mL) dan rerata kadar serum IL-1 β pada persalinan prematur yang tidak diberikan MgSO₄ (0,71 \pm 0,28ng/mL) dengan p=0,01 (p<0,05). Magnesium Sulfat berperan menurunkan kadar serum TNF- α dan IL-1 β pada bayi prematur.

Kata Kunci: IL-1 β , MgSO₄, Prematur, TNF- α

ABSTRACT

Prematurity causes mortality and neonatal morbidity including cerebral palsy (CP), cognitive disorders, and behavioral disturbances. Proinflammatory cytokines TNF- α and IL-1 β are supposedly increasing significantly on premature infants. Magnesium Sulfate (MgSO₄) is believed to perform as a neuroprotector on cerebral neonates, protect the tissue against free radical activity, act as a vasodilator of the brain vasculature, and decrease proinflammatory cytokines. This study aims to determine the role of MgSO₄ on TNF- α and IL-1 β levels on premature infants, using analytic observational method with cross-sectional approach conducted from January to December 2015 at Dr. Moewardi General Hospital Surakarta and Prodia laboratory Jakarta. The research subjects were 40 who met the inclusion and exclusion criteria and divided into 2 groups, namely 20 subjects of preterm labor group given MgSO₄ and 20 subjects of preterm labor group who did not receive MgSO₄. The levels of TNF- α and IL-1 β in the serum of infant cord blood from all subjects were examined using ELISA method. Data were analyzed using t-test. The mean of TNF- α serum level in the preterm birth group given MgSO₄ was 2,24 \pm 0,56ng/mL, and the mean of TNF- α serum level in preterm labor without MgSO₄ administration was 2,80 \pm 0,85ng/mL with p=0,01 (p<0,05). The mean of IL-1 β serum level in the group of preterm birth given MgSO₄ was 0,49 \pm 0,22ng/mL, while the mean of IL-1 β serum level in preterm labor without MgSO₄ administration was 0,71 \pm 0,28ng/mL with p=0,01 (p<0,05). In short, Magnesium Sulfate has a potential role in lowering TNF- α and IL-1 β serum levels on premature infants.

Keywords: IL-1 β , MgSO₄, Premature, TNF- α

Korespondensi: Sri Sulistyowati. Bagian Obstetri & Ginekologi Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Moewardi Surakarta, Jl. Kolonel Sutarto No. 132, Jebres, Jawa Tengah 57126 Tel. (0271) 634634 Email: elis_spog@yahoo.co.id

DOI: <http://dx.doi.org/10.21776/ub.jkb.2017.029.04.7>

PENDAHULUAN

Persalinan preterm merupakan masalah kesehatan bagi negara maju maupun berkembang, berperan besar peningkatan morbiditas dan mortalitas neonatus, serta sering berdampak kesehatan jangka panjang seperti cerebral palsy, kebutaan, dan perkembangan psikomotorik (1). Insiden *Cerebral Palsy* (CP) meningkat pada bayi prematur yaitu 0,7% pada usia hamil 32-36 minggu, 6,2% pada usia hamil 28-31 minggu dan 14,6% pada usia hamil 22-27 minggu (2). Dari seluruh kasus CP 25% didapatkan pada janin yang dilahirkan sebelum usia hamil 34 minggu (3). Prematuritas merupakan masalah serius karena dapat menyebabkan morbiditas dan mortalitas neonatus. Hampir separuh dari neonatus yang berhasil hidup akan mengalami kecacatan neurologis kongenital termasuk CP, gangguan kognitif dan gangguan tingkah laku.

Kejadian CP dan gangguan kognitif berhubungan dengan kerusakan *periventrikular white matter*, yang sering ditemui pada bayi yang dilahirkan sebelum usia kehamilan 32 minggu (4,5). Lesi patologi yang paling sering terjadi yang berhubungan dengan *Cerebral Palsy* (CP) pada bayi prematur adalah *Periventrikular White Matter Injury*. Oligodendrosit berkumpul paling banyak pada glia di *White Matter* otak (6).

Sitokin proinflamasi telah di ketahui secara signifikan meningkat pada cairan amnion dan otak janin neonatus dengan infeksi, termasuk respon inflamasi lokal yang menyebabkan kerusakan otak janin. Peningkatan sitokin telah diteliti di cairan amnion dan darah neonatus yang menderita *Cerebral Palsy* (CP). Infeksi mikroba ke dalam cairan amnion dapat menimbulkan persalinan prematur dan berakibat terjadinya infeksi pada janin. Mikroorganisme menghasilkan produk yang dapat memicu sel mononuklear menghasilkan *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) dan Inter Leukin-1 (IL-1) yang dapat meningkatkan permeabilitas sawar darah otak (*blood brain barrier*) sehingga produk mikroorganisme dan sitokin proinflamasi tersebut dapat masuk ke otak dan menimbulkan kerusakan pada jaringan putih otak (*white matter damage*) janin (7-9). Kerusakan *white matter damage* meliputi hilangnya dari oligodendrosit dan proliferasi astrosit yang diduga meningkatkan luaran bayi yang jelek. Inflamasi intrauterin menyebabkan hilangnya pro oligodendrosit. Inflamasi berhubungan dengan persalinan preterm (8).

Inisiasi dari respon sitokin proinflamasi yang berhubungan dengan infeksi bakteri pada jaringan plasenta dapat menyebabkan persalinan preterm. Sitokin yang berhubungan dengan persalinan preterm yaitu IL-1 β , IL-6, IL-8, dan TNF- α . Aktifasi sel imun termasuk didalamnya sirkulasi neutrophil, fagosit makrofag, sel T, sel NK, astrosit susunan saraf pusat dan mikroglia memproduksi mediator biologi seperti sitokin, kemokin, molekul adhesi, dan *growth factors* yang terlibat didalam interaksi kompleks intermolekular yang berpartisipasi dalam proses immunoinflamasi yang berhubungan dengan kerusakan otak (10).

Mediator inflamasi menimbulkan kerusakan pada otak yang sedang berkembang melalui jalan yang berbeda. Sebagai contoh TNF- α , memegang peran penting dalam proses imun yang menyebabkan terjadinya kerusakan *periventrikular white matter* pada fetus dan neonatus. Proses sitotoksik dan inflamasi dari TNF α terjadi melalui membran reseptor diantaranya reseptor 1 TNF, yang

memiliki daerah intraseluler yang telah mati dan aktifasinya mengatur apoptosis sel, juga mempunyai potensi dalam patogenesis kerusakan awal dari otak dimana oligodendrosit yang telah mati dan demyelinisasi merupakan faktor patologi primer dalam proses ini. Ekspresi TNF-R1 di oligodendrosit secara signifikan meningkat pada PWM otak yang sedang berkembang. Hal ini sinergis dengan peningkatan sel mati yang disebabkan oleh apoptosis dan nekrosis di *periventrikular white matter*, sehingga terlihat bahwa produksi TNF α oleh sel mikroglial dalam kondisi hipoksia menginduksi apoptosis oligodendrosit melalui TNF-R1 (11).

Tidak seperti TNF α , IL-1 β tidak bersifat toksik terhadap oligodendrosit, tetapi dapat memblokir proliferasi dari oligodendrosit. Saat ini telah di teliti mengenai peningkatan signifikan produksi IL-1 β oleh sel mikroglial bersamaan dengan ekspresi Reseptor 1 IL-1 pada oligodendrosit di *periventrikular white matter* otak neonatus. Diperkirakan bahwa aktifasi dan orientasi proinflamasi dari produksi IL-1 oleh sel mikroglial pada kondisi hipoksia menghambat perkembangan *white matter* dan perbaikan dari kondisi hipoksia (4). Disisi lain, penelitian yang dilakukan Varner MB 2015 mendapatkan hasil yang berbeda yaitu kadar TNF- α dan IL-1 β pada darah/ serum tali pusat bayi preterm tidak berhubungan dengan kejadian CP ataupun kelainan neurologis (12).

Magnesium Sulfat (MgSO₄) sudah banyak dipakai didalam dunia obstetri sebagai tokolitik untuk mencegah persalinan prematur, sebagai antikonvulsan dalam terapi preeklampsia dan diduga dapat berfungsi juga sebagai neuroproteksi terhadap otak janin. Magnesium sulfat berfungsi sebagai antagonis *N-methyl-D-aspartate* (NMDA) sehingga mencegah terjadinya kerusakan saraf otak janin. MgSO₄ juga diduga sebagai vasodilator dari vasculature otak/ cerebral, menginhibisi agregasi platelet, proteksi terhadap kerusakan sel endotel oleh karena radikal bebas (13).

Magnesium sulfat mempunyai efek yang menguntungkan pada sel mati dengan menurunkan sitokin proinflamasi atau radikal bebas yang terbentuk selama proses *hypoxic-ischemia reperfusion* dan proses inflamasi dalam kehamilan. Magnesium menjaga eksitotoksik calcium yang menyebabkan kerusakan jaringan, dengan *non competitive voltage-dependent inhibition* dari *N-methyl-D-aspartate* (NMDA) reseptor ke glutamat mengurangi masuknya calcium ke dalam sel dan otak janin yang lebih rentan terhadap kerusakan oleh glutamat. Dengan memblokir reseptor glutamat oleh agen seperti magnesium sulfat dapat menurunkan risiko terjadinya kerusakan jaringan otak pada periode perinatal. Magnesium memiliki efek hemodinamik yang menguntungkan termasuk menstabilisasikan tekanan darah saat dua hari pertama dalam kehidupan janin preterm dan dapat meningkatkan aliran darah otak dengan mengurangi konstiksi pada arteri cerebral (14,15). Transfer magnesium transplasental dapat terjadi dengan cepat, konsentrasi magnesium akan meningkat di darah serum janin hanya dalam waktu 1 jam setelah pemberian magnesium pada ibu (14).

Kontroversi terapi MgSO₄ apakah aman untuk terapi, masih dipertanyakan. Apakah betul berefek sebagai neuroprotektif, apakah sebagai tokolitik untuk mencegah persalinan preterm ataupun mungkin bisa meningkatkan morbiditas dan mortalitas perinatal (16). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh MgSO₄ terhadap kadar TNF- α dan IL-1 β pada bayi premature dan

diharapkan terapi MgSO₄ dapat digunakan sebagai pencegahan terjadinya gangguan neurologis pada bayi prematur.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik menggunakan pendekatan *cross sectional*. Penelitian dilakukan di bagian Obstetri dan Ginekologi RSUD Dr. Moewardi Surakarta dan Laboratorium Prodia Jakarta mulai bulan Januari–Desember 2015. Besar sampel berdasarkan rumus Murti ($2\alpha^2PQ/d^2$) adalah 40 subjek (17) yang dibagi dalam 2 kelompok yaitu kelompok dengan 20 subjek persalinan prematur dengan terapi MgSO₄ dan kelompok 20 subjek persalinan prematur tanpa terapi MgSO₄ yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi serta menyetujui mengikuti penelitian. Kriteria inklusi adalah ibu hamil usia 20-35 tahun, usia kehamilan 28-36 minggu, pasien dalam persalinan dengan pembukaan aktif atau pasien dengan perencanaan persalinan karena alasan medis tanpa disertai penyakit kronis, pasien dengan kriteria Pre Eklampsia Berat (PEB), bersedia ikut penelitian. Kehamilan kembar, kematian janin dalam rahim, janin dengan kelainan kongenital mayor atau minor, janin dengan pertumbuhan janin terhambat merupakan kriteria eksklusi. Kelayakan etik didapatkan dari komisi etik penelitian RSUD Dr. Moewardi Surakarta Nomor: 708/XII/HREC/2014

MgSO₄ diberikan secara intramuskuler 8 gram. Semua subjek dilakukan pemeriksaan kadar TNF- α dan IL-1 β dari serum darah tali pusat janinnya saat bayi lahir. Pemeriksaan tersebut menggunakan metode ELISA yang dilakukan di laboratorium Prodia Jakarta. Pemeriksaan kadar TNF- α menggunakan reagen Assay Diluent RD1F dan pemeriksaan kadar IL-1 β menggunakan reagen Assay Diluent RD1-82. Data dianalisis dengan uji t menggunakan SPSS.

HASIL

Hasil (Tabel 1) menunjukkan subjek penelitian berusia 24,82 \pm 4,20 tahun dengan umur kehamilan rerata 33,52 \pm 1,50 minggu. Pemeriksaan laboratorium memberikan gambaran rerata hemoglobin 10,61 \pm 1,09gr/dl, rerata albumin 12,68 \pm 1,36 (gr/dl), rerata angka trombosit 194,15 \pm 30,95 (10³/ μ l), rerata gula darah sewaktu 103,40 \pm 13,17 (mg/dL), rerata SGOT 28,27 \pm 8,09 (U/l) dan rerata SGPT 26,60 \pm 7,59 (U/l).

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

Variabel	N	Min	Max	Rerata	SD
Umur ibu (tahun)	40	17,00	34,00	24,82	4,20
Umur kehamilan (mng)	40	30,00	36,00	33,52	1,50
Haemoglobin (gr/dl)	40	8,20	13,20	10,61	1,09
Albumin (gr/dl)	40	10	16	12,68	1,36
Trombosit (10 ³ / μ l)	40	150	330	194,15	30,95
Gula darah sewaktu (mg/dL)	40	72,00	128,00	103,40	13,17
SGOT (U/l)	40	12,00	45,00	28,27	8,09
SGPT (U/l)	40	10,00	45,00	26,60	7,59

Dari Tabel 2 diperoleh hasil rerata kadar TNF- α lebih rendah pada kelompok persalinan preterm yang diberikan

MgSO₄ (2,24 \pm 0,56ng/mL), dibandingkan dengan persalinan preterm yang tidak diberikan MgSO₄ (2,80 \pm 0,85ng/mL, p=0,01). Rerata kadar IL-1 β lebih rendah pada kelompok persalinan preterm yang diberikan MgSO₄ (0,49 \pm 0,22ng/mL), dibandingkan dengan persalinan preterm yang tidak diberikan MgSO₄ (0,71 \pm 0,28ng/mL, p=0,01).

Tabel 2. Distribusi rerata kadar TNF- α dan IL-1 β kelompok persalinan preterm yang diberikan MgSO₄ dan kelompok persalinan preterm yang tidak diberikan MgSO₄

Variabel	Persalinan Preterm dengan Terapi MgSO ₄ (N=20)	Persalinan Preterm tanpa Terapi MgSO ₄ (N=20)	p
Kadar TNF- α (ng/mL)	2,24 \pm 0,56	2,80 \pm 0,85	0,01*
Kadar IL-1 β (ng/mL)	0,49 \pm 0,22	0,71 \pm 0,28	0,01*

*signifikan p<0,05

DISKUSI

Inflamasi pada bayi prematur menyebabkan proliferasi, diferensiasi dan kematian sel yang akan menyebabkan *Cerebral Palsy* (CP), kejang, kelainan sensorik dan kelainan kognitif (11). Persalinan prematur berhubungan dengan inflamasi pada fetal yaitu adanya peningkatan kadar TNF- α dan IL-1 β dan sitokin proinflamasi lainnya pada darah tali pusat (10,18). Sitokin proinflamasi TNF- α , IL-6 dan IL-1 β meningkatkan risiko morbiditas neural seperti CP (13).

Magnesium dikenal sebagai modulator dari eksitabilitas sel neuron dan ketika diberikan sebagai obat dari luar akan menghambat aktifitas sel neuron (16). Magnesium sulfat pada bayi baru lahir preterm dapat digunakan sebagai strategi neuroprotektif untuk otak janin (4). Pemberian MgSO₄ saat antenatal menurunkan risiko terjaninya CP pada bayi lahir sangat rendah oleh karena prematur sehingga MgSO₄ dianggap berpengaruh terhadap neuroprotektif. Pemberian MgSO₄ in utero/dalam rahim pada ibu yang mempunyai risiko untuk persalinan preterm risiko CP pada bayinya berkurang (19). MgSO₄ secara luas berpotensi sebagai neuroprotektif terhadap kelainan otak yang disebabkan oleh hipoksia/iskemia perinatal seperti encephalopathy, perdarahan intraventrikuler, periventrikuler leucomalacea dan CP (16).

Pada penelitian ini pemberian MgSO₄ pada kelompok persalinan prematur terbukti menurunkan kadar serum TNF- α dan IL-1 β . Hal ini dimungkinkan karena MgSO₄ mempunyai efek menurunkan sitokin proinflamasi. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Alaa Amash, bahwa MgSO₄ dapat menurunkan kadar TNF- α pada sirkulasi darah ibu dan janinnya (pada janin 0,89 \pm 0,09pg/mL/g kotiledon) dan pada sirkulasi ibu 4,74 \pm 2,78pg/mL/g kotiledon). MgSO₄ berperan sebagai neuroprotektif dengan cara menghambat reseptor glutamat (13). Penelitian yang dilakukan oleh Zuzuki 2013 menyebutkan bahwa MgSO₄ meningkatkan kadar magnesium dalam sel (intra selular yang akan menurunkan jumlah monosit yang memproduksi TNF- α dan IL-1 β . TNF- α menurun 48% dan IL-1 β menurun 37% (20).

Penelitian Burd menyebutkan mekanisme penyebab terjadinya kerusakan saraf pada otak janin dapat terjadi

kerusakan pada saraf lainnya. Otak janin yang terekspos lipopolisakarida, antigen bakteri dapat menyebabkan inflamasi intrauterine yang menyebabkan morfologi saraf yang abnormal dengan penurunan proses dendritik, sehingga mengganggu komunikasi antar saraf synaptik. Magnesium dapat mengurangi jumlah radikal bebas oksigen dan mengurangi jumlah sitokin inflamasi. Kekurangan Magnesium akan memiliki banyak sitokin inflamasi dan kerusakan otak. Otak janin yang mengalami proses inflamasi kemudian diberi MgSO₄ tidak menunjukkan kerusakan saraf yang berhubungan dengan proses dendritik (8).

Sugimoto 2012 dalam penelitiannya mendapatkan kadar magnesium intraselular yang meningkat saat diberikan terapi MgSO₄ karena MgSO₄ ini akan melewati plasenta sehingga kadar nya di maternal dan fetal menjadi equivalen. MgSO₄ mempunyai pengaruh anti inflamasi

bersifat reversibel, menurunkan produksi sitokin dan tidak berhubungan dengan perubahan tekanan osmotik. MgSO₄ menurunkan jumlah monosit yang memproduksi TNF- α dan IL-1 β (10). Penelitian ini tidak mengukur kadar TNF- α dan IL-1 β pada tali pusat bayi sebelum ibu diberikan terapi MgSO₄ karena merupakan tindakan invasif. Penelitian ini membuktikan bahwa magnesium sulfat berperan menurunkan kadar serum TNF- α dan IL-1 β pada bayi prematur. Disarankan terapi MgSO₄ dapat dipakai pada ibu yang akan melahirkan janin prematur.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada dr. Eric Edwin, Sp.OG(K), penanggung jawab kamar bersalin RSUD Dr. Moewardi Surakarta atas ijin dan fasilitasi proses penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wiharjo SK, Respati SH, dan Bawono ABG. *Kadar Heat Shock Protein 70 pada Persalinan Prematur*. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2015; 28(4): 309-313
2. Himpens E, Van den Broeck C, Oostra A, Calders P, and Vanhaesebrouck P. *Prevalence, Type, Distribution, and Severity of Cerebral Palsy in Relation to Gestational Age: A Meta-Analytic Review*. Developmental Medicine and Child Neurology. 2008; 50(5): 334-340.
3. Conde-Agudelo A and Romero R. *Antenatal Magnesium Sulfate for the Prevention of Cerebral Palsy in Preterm Infants Less Than 34 Weeks' Gestation: A Systematic Review and Metaanalysis*. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2009; 200(6): 595-609.
4. Degos V, Loron G, Mantz J, and Gressens P. *Neuroprotective Strategies for the Neonatal Brain*. Anesthesia and Analgesia. 2008; 106(6): 1670-1680.
5. McAdams RM and Juul SE. *The Role of Cytokines and Inflammatory Cells in Perinatal Brain Injury*. Neurology Research International. 2012; 2012: 1-15.
6. Mittendorf R and Pryde PG. *Magnesium Sulfate for the Prevention of Cerebral Palsy*. The New England Journal of Medicine. 2009; 360: 189-190.
7. Tyler CP, Paneth N, Allred EN, et al. *Brain Damage in Preterm Newborns and Maternal Medication: the ELGAN Study*. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2012; 207(3): -192.e1192.e9.
8. Burd I, Chai J, Gonzalez J, et al. *Beyond White Matter Damage: Fetal Neuronal Injury in a Mouse Model of Preterm Birth*. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2009; 201(3): 279.e1-279.e8
9. Goscik E, Kulak W, Goscik J, Goscik J, Okurowska-Zawada B, and Tarasow E. *The Cerebellum in Children With Spastic Cerebral Palsy: Volumetrics MRI Study*. Progress in Health Sciences. 2011; 1(2): 67-75.
10. Sugimoto J, Romani AM, Valentin-Torres AM, et al. *Magnesium Decrease Inflammatory Cytokine Production: A Innate Immunomodulatory Mechanism*. The Journal of Immunology. 2012; 188(12): 6338-6346.
11. Berger I, Peleg O, and Ofek-Shlomai N. *Inflammation and Early Brain Injury in Term and Preterm Infants*. The Israel Medical Association Journal. 2012; 14(5): 318-323.
12. Varner MW, Marshall NE, Rouse DJ, et al. *The Association of Cord Serum Cytokines with Neurodevelopmental Outcomes*. American Journal of Perinatology. 2015; 30(2): 115-122.
13. Amash A, Weintraub AY, Sheiner E, Zeadna A, Huleihel M, and Holcberg G. *Possible Therapeutic Effect of Magnesium Sulfate in Pre-Eclampsia by the Down-Regulation of Placental Tumor Necrosis Factor-Alpha Secretion*. European Cytokine Network. 2010; 21(1): 58-64.
14. Crowther CA, Middleton PF, Wilkinson D, Ashwood P, Haslam R, and MAGENTA Study Group. *Magnesium Sulphate at 30 to 34 Weeks' Gestational Age: Neuroprotection Trial (MAGENTA) - Study Protocol*. BMC Pregnancy and Childbirth. 2013; 9(13): 91-99.
15. Zylinska L, Gulczynska E, and Kozaczuk A. *Changes in Erythrocyte Glutathione and Plasma Membrane Calcium Pump in Preterm Newborns Treated Antenatally with MgSO₄*. Neonatology. 2008; 94(4): 272-278.
16. Dribben WH, Creeley CE, Wang HH, Smith DJ, Farber NB, and Olney JW. *High Dose Magnesium Sulfate Exposure Induces Apoptotic Cell Death in the Developing Neonatal Mouse Brain*. Neonatology. 2009; 96(1): 23-32.
17. Murti B. *Desain dan Ukuran Sampel untuk Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif di Bidang Kesehatan*. Edisi 3. Yogyakarta: Gajah Mada University; 2013.
18. Dammann O and O'Shea TM. *Cytokines and Perinatal Brain Damage*. Clinics in Perinatology. 2008; 35(4): 643-663.
19. Costantine MM, Weiner SJ, and Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Effects of Antenatal Exposure to Magnesium Sulfate on Neuroprotection and Mortality*

- in Preterm Infants: a Meta-Analysis*. *Obstetrics and Gynecology*. 2009; 114(2 Pt 1): 354-364.
20. Suzuki-Kakisaka H, Sugimoto J, Tatarbe M, Romani AM, Ramirez Kitchen CM, and Bernstein HB. *Magnesium Sulfate Increases Intracellular Magnesium Reducing Inflammatory Cytokine Release in Neonates*. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2013; 70(3): 213-220.