

Pengaruh kandungan vitamin A dalam ransum terhadap efek toksik aflatoksin B₁ pada sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati tikus *Rattus norvegicus*

Wiryatun Lestariana
Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran,
Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

ABSTRACT

Wiryatun Lestariana - *Effect of dietary vitamin A against the toxic effect of aflatoxin B₁ on the cytochrome P450 in the liver microsomal protein of Rattus norvegicus rats*

Liver cytochrome P450 microsomal protein metabolizes certain xenobiotic compounds into reactive intermediates which covalently bind to DNA, RNA or protein of nucleus. The action of cytochrome P450 can be influenced by nutrition status and environmental pollution. Aflatoxin B₁ (AFB₁) is the environmental exposure problem in the countries with tropical climate. Aflatoxin B₁ can also be oxidized by cytochrome P450 to DNA and protein - binding metabolites and can give rise to cell injury, mutation and cancer. The objective of this study is to investigate the effect of dietary vitamin A (deficient, adequate, fourfold-adequate) against the toxic effect of AFB₁ in the liver cytochrome P450 microsomal protein of rats. Variance analysis of the result showed that the interaction of the vitamin A in the diet and treatment with AFB₁ had no significant effect. However the rats with dietary deficient and adequate in vitamin A, treated with AFB₁ showed significantly increased the cytochrome P450 ($p < 0.001$). The dietary fourfold-adequate in vitamin A was able to maintain the concentration of cytochrome P450 in liver microsomal protein of rats treated with AFB₁ within normal range. It is concluded that the effect of dietary vitamin A against the toxic effect of AFB₁ in liver cytochrome P450 microsomal protein of rats depends on the vitamin A concentrations in the diet consumed.

Keywords: dietary vitamin A - aflatoxin B₁ - liver microsomal protein - cytochrome P450 - *Rattus norvegicus*

ABSTRAK

Wiryatun Lestariana - *Pengaruh kandungan vitamin A dalam ransum terhadap efek toksik aflatoksin B₁ pada sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati tikus Rattus norvegicus*

Sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati memetabolisis senyawa xenobiotika tertentu menjadi metabolit reaktif yang dapat berikatan kovalen dengan DNA, RNA dan protein inti. Aktivitas sitokrom P-450 dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor di antaranya adalah faktor status nutrisi dan cemaran lingkungan. Aflatoksin B₁ merupakan masalah cemaran lingkungan di negara-negara yang mempunyai iklim tropis. Sitokrom P450 juga memetabolisis aflatoksin B₁ menjadi metabolit AFB₁ reaktif yang dapat berikatan secara kovalen dengan makromolekul inti dan dapat mengakibatkan sel cedera, mutasi dan kanker. Tujuan utama penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kandungan vitamin A dalam ransum terhadap efek toksik AFB₁ pada sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati tikus. Hasil analisis statistik dengan ANAVA menunjukkan bahwa interaksi kandungan vitamin A dalam ransum dan pemberian AFB₁ mempunyai pengaruh yang tidak bermakna terhadap kadar sitokrom P-450. Namun demikian, tikus yang mendapatkan ransum defisien dan cukup vitamin A, pemberian AFB₁ mengalami peningkatan kadar sitokrom P-450 secara bermakna ($p < 0,001$). Sedangkan ransum yang mengandung vitamin A 4 X cukup dapat mempertahankan kadar sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati tikus yang diberi AFB₁ tetap dalam kisaran normal. Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa pengaruh kandungan vitamin A dalam ransum terhadap efek toksik AFB₁ pada sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati tikus tergantung pada kadar vitamin A dalam ransum yang dikonsumsi.

PENGANTAR

Di dalam organ dan jaringan manusia atau hewan terdapat sejumlah enzim yang mampu memetabolisis senyawa larut dalam lemak menjadi larut dalam air yang selanjutnya dapat dengan mudah diekskresikan¹. Sistem enzim yang terlibat dalam reaksi tersebut di antaranya adalah sistem enzim *mixed-function oxidases* yang mengandung komponen-komponen NADH - sitokrom P-450 reduktase, sitokrom P-450 dan fosfolipid yang terutama terdapat pada membran retikulum endoplasma halus sel hati. Sistem enzim ini mengkatalisis oksidasi berbagai senyawa endogen (hormon steroid, asam-asam lemak) dan eksogen (xenobiotika: obat, alkohol, DDT, aflatoksin) menjadi metabolit reaktif dan metabolit teroksidasi yang lain. Metabolit reaktif dapat berikatan secara kovalen dengan DNA, RNA dan protein sel. Senyawa yang terbentuk secara kovalen ini dapat mengakibatkan sel cedera, mutasi dan kanker^{1,2,3}. Kadar sitokrom P-450 dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor yaitu galur, jenis kelamin, genetik, status nutrisi dan cemaran lingkungan. Kenaikan kadar sitokrom P-450 dapat meningkatkan metabolisme senyawa-senyawa endogen dan eksogen tersebut di atas⁴. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa-senyawa vitamin A dan analognya dapat menghambat aktivitas sistem enzim *mixed-function oxidases* hati tikus yang diberi hidrokarbon polisiklik⁵. Peneliti lain melaporkan bahwa tikus yang mengonsumsi ransum cukup vitamin A, pemberian *polybrominated biphenyl* meningkatkan kadar sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati tikus⁶. Aflatoksin B₁ (AFB₁) adalah metabolit sekunder yang dihasilkan terutama oleh kapang *Aspergillus flavus*⁷. Di negara-negara yang mempunyai iklim tropis, AFB₁ merupakan masalah lingkungan karena *A. flavus* penghasil AFB₁ pada kondisi tersebut mudah tumbuh. Aflatoksin B₁ dalam tubuh mengalami biotransformasi menjadi metabolit AFB₁ reaktif (epoksida AFB₁) dan pembentukan epoksida AFB₁ dipengaruhi oleh kadar sitokrom P-450³. Dilaporkan bahwa lebih dari 90% insidensi karsinoma hepatoselular disebabkan oleh faktor lingkungan yang di antaranya adalah AFB⁸.

Mengingat AFB₁ merupakan masalah lingkungan dan terbentuknya metabolit reaktif AFB₁

dipengaruhi oleh kadar sitokrom P-450, kadar sitokrom P-450 dapat dipengaruhi oleh senyawa-senyawa vitamin A dan cemaran lingkungan serta meningkatnya kadar sitokrom P-450 dapat meningkatkan metabolisme senyawa endogen (hormon steroid, asam-asam lemak), maka tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui pengaruh kandungan vitamin A dalam ransum (defisien, cukup, 4 X cukup) terhadap efek toksik AFB₁ pada kadar sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati tikus.

BAHAN DAN CARA

Bahan

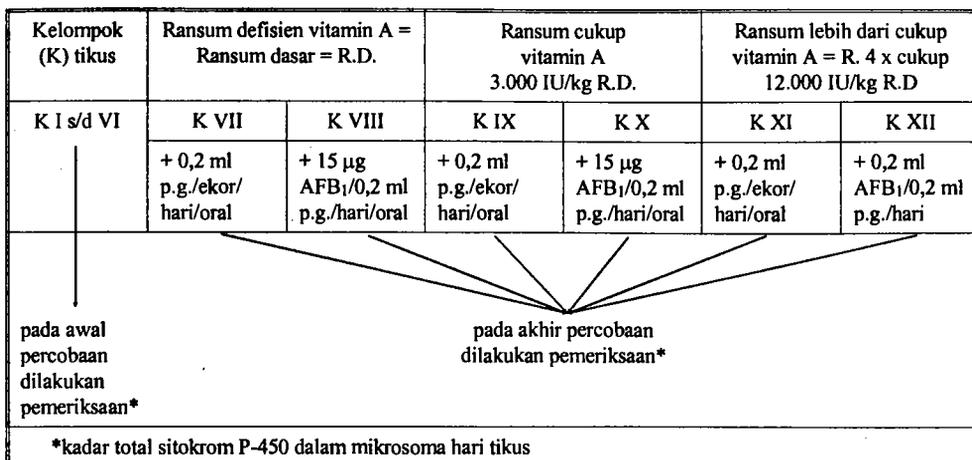
Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, umur 1-2 bulan dengan berat badan 62-68,5 gram dan tampak sehat (kadar protein 6-7 gram/dl serum).

Ransum tikus adalah ransum defisien vitamin A (Ransum dasar = R.d.), ransum cukup vitamin A (3.000 IU/kg R.d.) dan ransum 4 X cukup vitamin A (12.000 IU/kg R.d.). Vitamin A yang digunakan retinil palmitat, diperoleh dari *F. Hoffman La Roche & Co, Limited company*, lot. No. 001068 d 20, CH. 4002, Basle-Switzerland.

Aflatoksin B₁ diperoleh dari Sigma grade A-6636.

Cara

Tahapan penelitian. Empat-puluh delapan ekor tikus yang telah memenuhi persyaratan yang ditentukan dalam penelitian ini dibagi secara acak menjadi 12 kelompok yaitu kelompok I s/d XII. Masing-masing kelompok terdiri dari empat ekor tikus. Selanjutnya masing-masing tikus dalam kelompoknya diperlakukan menurut alur percobaan dari awal sampai akhir (GAMBAR 1). Tikus dalam kelompok I s/d VI adalah kelompok tikus yang dimatikan pada awal percobaan untuk ditentukan kadar sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati⁹. Data yang diperoleh dari tikus kelompok I s/d VI dipergunakan untuk menggambarkan kondisi awal kadar sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati tikus kelompok VII s/d XII. Selanjutnya masing-masing tikus dalam kelompok VII s/d XII tersebut selama 16



Keterangan

p.g. = propilen glikol; AFB₁ = aflatoksin B₁ yang dilarutkan dalam 0,2 ml p.g.; Tikus K I s/d K VI: kelompok tikus yang dimatikan pada awal percobaan; Tikus K VII s/d K XII: kelompok tikus yang diperlakukan selama 16 minggu

GAMBAR 1. - Bagan alur percobaan

minggu, setiap hari diberi ransum sesuai dengan kelompoknya dan diberi minum air PAM sepenuhnya serta diberi 0,2 ml propilen glikol per oral dengan sonde. Propilen glikol adalah pelarut AFB₁. Pada akhir percobaan semua tikus dipuasakan selama kurang lebih 10 jam dan selanjutnya tikus dimatikan, hatinya diambil, ditimbang kemudian ditentukan kadar sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hatinya⁹.

Analisis data

Hasil pengukuran kadar sitokrom P-450 total dalam protein mikrosoma hati tikus pada akhir percobaan dianalisis secara statistik dengan analisis variansi (ANAVA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berat hati tikus

Rerata berat hati tikus pada akhir percobaan selama minggu disajikan dalam TABEL 1. Dalam TABEL 1 tampak bahwa berat hati tikus yang mendapatkan AFB₁ lebih rendah daripada berat hati tikus yang ransumnya sama tetapi tidak mendapatkan AFB₁. Berat hati tikus yang mendapatkan ransum yang kandungan vitamin A-nya 4

X cukup, baik yang mendapatkan AFB₁ maupun tidak (K XI da K XII) menunjukkan berat hati yang lebih besar dan bermakna dibanding dengan berat hati tikus kelompok lain. Di lain pihak berat hati tikus antar kelompok yang ransumnya berbeda kandungan vitamin A-nya, menunjukkan perbedaan bermakna hanya pada tikus yang mendapatkan ransum defisien vitamin A dan cukup vitamin A ($p < 0,01$) serta pada tikus yang mendapatkan ransum defisien vitamin A dan 4 X cukup vitamin A ($p < 0,005$). Tikus yang mengkonsumsi ransum yang kandungan vitamin A-nya sama, pemberian AFB₁ mempunyai pengaruh yang tidak bermakna pada berat hati tikus. Perbedaan berat hati tersebut kiranya hanya disebabkan oleh pengaruh kandungan vitamin A dalam ransum yang dikonsumsi saja; Kusumawati¹⁰ dan Suhartono¹¹ melaporkan bahwa ada perbedaan bermakna berat hati tikus antara tikus yang mengkonsumsi ransum cukup vitamin A dan ransum defisien vitamin A ($p < 0,05$). Kusumawati¹⁰ melaporkan bahwa berat hati tikus dewasa yang mendapatkan ransum cukup vitamin A adalah $6,79 \pm 0,18$ gram dan Suhartono¹¹ adalah $7,01 \pm 0,59$ gram. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa berat hati tikus yang mendapatkan ransum cukup dan 4 X cukup vitamin A mendu-

TABEL 1. - Berat hati tikus (gram) pada akhir percobaan 16 minggu

Kelompok tikus N = 4	Jenis ransum yang dikonsumsi	Jenis perlakuan	Berat hati $\bar{X} \pm 1 \text{ S.D.}$
Kelompok VIII	defisien vitamin A (Ransum dasar= R.d.)	+ 0,2 ml p.g.	6,28 \pm 0,45
Kelompok VIII	defisien vitamin A	+ 15 μg AFB ₁ / 0,2 ml p.g.	6,05 \pm 0,29
Kelompok IX	cukup vitamin A 3.000 IU/kg R.d.	+ 0,2 ml p.g.	6,89 \pm 0,43
Kelompok X	cukup vitamin A	+ 15 μg AFB ₁ / 0,2 ml p.g.	6,79 \pm 0,46
Kelompok XI	4 x cukup vitamin A 12.000 IU/kg R.d.	+ 0,2 ml p.g.	7,06 \pm 0,35
Kelompok XII	4 X cukup vitamin A	+ 15 μg AFB ₁ / 0,2 ml p.g.	7,07 \pm 0,10

p.g. = propilen glikol = pelarut AFB₁AFB₁ = aflatoxin B₁**Keterangan kemaknaan**

1. Antar K VII dan K IX, K X $p < 0,01$
2. Antar K VII dan K XI, K XII $p < 0,005$
3. Antar K VIII dan K IX, K X $p < 0,005$
4. Antar K VIII dan K XI, K XII $p < 0,001$
5. Antar K IX, K X dan K XI, K XII $p < 0,05$

TABEL 2. - Kadar sitokrom P-450 total (nmol/ mg protein) dalam protein mikrosoma hati tikus pada awal percobaan

Kelompok tikus N = 4	Kadar sitokrom P-450 ($\bar{X} \pm 1 \text{ S.D.}$)	Kelompok tikus N = 4	Kadar sitokrom P-450 ($\bar{X} \pm 1 \text{ S.D.}$)
I = VIII	0,712 \pm 0,052	II = VIII	0,711 \pm 0,051
III = IX	0,709 \pm 0,050	IV = X	0,710 \pm 0,050
V = XI	0,710 \pm 0,051	VI = XII	0,710 \pm 0,052

Keterangan kemaknaan

Antar K I s/d K VI menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna

kung hasil penelitian Kusumawati dan Suhartono. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kandungan vitamin A dalam ransum mempunyai pengaruh yang bermakna pada berat hati tikus, sedang pengaruh pemberian AFB₁ terhadap berat hati tikus yang mengkonsumsi jenis ransum sama tidak bermakna. Namun demikian, karena sasaran utama toksisitas AFB₁ adalah hati⁷ maka fungsi vitamin A sebagai agen khemopreventif terhadap efek toksik AFB₁ perlu dibuktikan dengan penetapan kadar sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati tikus. Hal ini perlu diteliti sebab kadar sitokrom P-450 mempunyai peran penting dalam biotransformasi AFB₁ menjadi epoksida AFB₁ reaktif³.

Kadar sitokrom P-450 total dalam protein mikrosoma hati pada awal percobaan

Kadar sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati tikus K VII s/d K XII pada awal per-

cobaan diperoleh dari penetapan kadar sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati tikus kelompok I s/d VI, yaitu kelompok tikus yang dimatikan pada awal percobaan (TABEL 2). Data TABEL 2 menunjukkan bahwa kadar sitokrom P-450 total dalam protein mikrosoma hati tikus antar kelompok tersebut menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna. Data ini dapat diartikan bahwa kadar sitokrom P-450 total dalam protein mikrosoma hati tikus antar kelompok VII s/d XII pada awal percobaan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna.

Kadar sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati tikus pada akhir percobaan 16 minggu

Kadar sitokrom P-450 total dalam protein mikrosoma hati tikus kelompok VII s/d XII disajikan dalam TABEL 3. Pada TABEL 3 ditunjukkan bahwa kadar sitokrom P-450 total yang

TABEL 3. - Kadar sitokrom P-450 total dalam protein mikrosoma hati tikus (nanomol/mg protein) pada akhir percobaan 16 minggu

Kelompok tikus N = 4	Jenis ransum yang dikonsumsi tikus	Perlakuan per hari /ekor	Kadar sitokrom P-450 total (X ± 1 S.D.)
VII	defisien vitamin A (R.d.)	+ 0,2 ml propilen glikol (p.g)	1,74 ± 0,09
VIII	defisien vitamin A (R.d.)	+ 15 µg AFB ₁ / 0,2 ml p.g.	3,57 ± 0,31
IX	cukup vitamin A (3.000 IU Vit. A/kg R.d.)	+ 0,2 ml p.g.	1,00 ± 0,06
X	cukup vitamin A	+ 15 µg AFB ₁ / 0,2 ml p.g	2,55 ± 0,17
XI	4 x cukup vitamin A (12.000 IU Vit. A/kg R.d.)	+ 0,2 ml p.g.	0,99 ± 0,05
XII	4 X cukup vitamin A	+ 15 µg AFB ₁ /0,2 ml p.g.	0,97 ± 0,34

Keterangan kemaknaan

1. Pengaruh antaraksi vitamin A dalam ransum dan pemberian AFB₁ menunjukkan perbedaan tidak bermakna
2. Pengaruh kadar vitamin A dalam ransum saja Antar K VII dan K IX, K XI $p < 0,001$
3. Pengaruh pemberian AFB₁ pada tikus yang mengkonsumsi jenis ransum sama Antar K III dan K IV; K IX dan K X $p < 0,001$

tinggi adalah kelompok tikus yang mengkonsumsi ransum cukup dan defisien vitamin A juga mendapatkan AFB₁ (2,55 ± 0,17 dan 3,57 ± 0,31 nmol/mg protein mikrosoma hati). Akan tetapi, tikus yang mengkonsumsi ransum 4 X cukup vitamin A, meskipun mendapatkan AFB₁, kadar sitokrom P-450 total dalam protein mikrosoma hatinya hampir sama dengan kadar sitokrom P-450 total hati tikus yang hanya mengkonsumsi ransum cukup dan ransum 4 x cukup vitamin A saja, yaitu kurang lebih 1 nanomol/mg protein mikrosoma hati. Hasil-hasil tersebut setelah dianalisis dengan ANAVA, pengaruh antaraksi kandungan vitamin A dalam ransum dan pemberian AFB₁ menunjukkan pengaruh yang tidak bermakna. Akan tetapi kandungan vitamin A dalam ransum dan pemberian AFB₁ masing-masing mempunyai pengaruh yang bermakna ($p < 0,001$).

Pengaruh kandungan vitamin A dalam ransum terhadap kadar sitokrom P-450

Pada TABEL 3 ditunjukkan bahwa pada tikus yang mengkonsumsi ransum defisien vitamin A, kadar sitokrom P-450 di dalam hatinya menunjukkan kadar yang paling tinggi dan berbeda bermakna ($p < 0,001$) dengan tikus yang mengkon-

sumsi ransum cukup dan 4 X cukup vitamin A. Lestariana¹² melaporkan bahwa tikus yang mengkonsumsi ransum defisien vitamin A tersebut pada akhir percobaan status vitamin A-nya menunjukkan defisiensi. Pada umumnya kenaikan kadar sitokrom P-450 total dalam protein mikrosoma hati suatu organisme biasanya karena adanya proses detoksifikasi atau aktivasi¹. Tetapi dalam kasus ini kiranya kenaikan itu disebabkan karena tubuh tikus kelompok tersebut telah mengalami defisiensi vitamin A. Dilaporkan bahwa kadar sitokrom P-450 dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya adalah faktor status nutrisi⁴. Pada TABEL 3 juga ditunjukkan bahwa tikus yang mendapatkan ransum cukup vitamin A dan 4 X cukup vitamin A menunjukkan kadar sitokrom P-450 total dalam hatinya hampir sama yaitu sekitar 1 nmol/mg protein mikrosoma hati. Berdasarkan hasil-hasil penelitian, kadar-kadar tersebut adalah dalam kisaran normal; Craddock *et al.*¹³ dan Yoo *et al.*¹⁴ melaporkan bahwa tikus yang mengkonsumsi ransum yang kandungan vitamin A-nya cukup selama 18 minggu kadar sitokrom P-450 total dalam hatinya berkisar antara 0,86 - 1,04 nmol/mg protein. Dari hasil penelitian ini dapat diambil

kesimpulan bahwa ransum yang defisien vitamin A meningkatkan secara bermakna ($p < 0,001$) kadar sitokrom P-450 total dalam protein mikrosoma hati tikus.

Pengaruh pemberian aflatoksin B₁ terhadap kadar sitokrom P-450

Pada TABEL 3 ditunjukkan bahwa pemberian AFB₁ mempunyai pengaruh yang sangat bermakna ($p < 0,001$) hanya pada kadar sitokrom P-450 total dalam hati tikus yang mengkonsumsi ransum defisien dan cukup vitamin A. Pada kelompok tikus tersebut terjadi kenaikan kadar sitokrom P-450 di dalam hatinya. Hasil ini menunjukkan bahwa dalam tubuh tikus tersebut terjadi peningkatan proses biotransformasi AFB₁ menjadi epoksida AFB₁ yang reaktif³. Sedang pada tikus yang mengkonsumsi ransum 4 X cukup vitamin A, pemberian AFB₁ tidak meningkatkan kadar sitokrom P-450 total dalam protein mikrosoma hati tikus tersebut. Hasil ini membuktikan bahwa vitamin A dapat digunakan sebagai agen khemopreventif terhadap efek toksik AFB₁. Dalam hal ini kerja vitamin A mungkin menghambat aktivitas sistem enzim *mixed-function oxidases* seperti yang telah dibuktikan oleh Hill dan Shih⁵, yang melaporkan bahwa senyawa-senyawa vitamin A dan analognya dapat menghambat *mixed-function oxidases* yaitu sistem enzim yang memetabolisis hidrokarbon polisiklik dan xenobiotika lainnya.

SIMPULAN

Pengaruh kandungan vitamin A dalam ransum terhadap efek toksik aflatoksin B₁ pada kadar sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hati tergantung pada kadar vitamin A dalam ransum yang dikonsumsi. Pada ransum yang defisien dan cukup vitamin A, pemberian aflatoksin B₁ meningkatkan kadar sitokrom P-450 total dalam protein mikrosoma hati tikus, sedang pada ransum yang mengandung vitamin A lebih dari cukup, kenaikan kadar sitokrom P-450 yang disebabkan oleh aflatoksin B₁ dapat dihambat.

KEPUSTAKAAN

1. Okita RT, Masters BSS. Biotransformations: The cytochromes P450. In Devlin TM, editor. Textbook of biochemistry with clinical correlations, Third ed, pp. 981-97. Singapore: A John Wiley and sons, Inc. Publication, 1992.
2. Murray RK. Metabolism of xenobiotics In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell WV, editors. Harper's biochemistry, 23rd, ed. New Jersey: Prentice - Hall International, Inc, 1993.
3. Eaton LD, Gallagher EP. Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 1994; 34: 135-72.
4. Kanazawa Y, Mitsukazu Kitada, Toshiyuki Mori, Yoshikazi Inukai, Susumu Imaoka, Yoshihiko Funae et al. Ascorbic acid deficiency decreases specific forms of cytochrome P450 in liver microsomes of guinea pigs. *Am J Pharmacol & Exp Ther*, 1991; 39:456-60.
5. Hill DL, Shih TW. Vitamin A compounds and analogs as inhibitors of mixed-function oxidases that metabolize carcinogenic polycyclic hydrocarbons and other compounds. *Cancer Res*. 1974; 34:564-70.
6. Darjono. Vitamin A status polybrominated biphenyl (PBB) toxicosis and common bile duct hiperplasia in rats. *Toxicol & Applied Pharmacol*, 1982; 71:184-93.
7. Spensley PC. Aflatoxin the active in Turkey "X" disease. *Endeavour*, 1963; 22:75-79.
8. World Health Organization. Chemoprevention in cancer control, IARC Scientific Publications No. 136, International Agency for Research on Cancer, Lyon, 1996.
9. Snell K, and Mullock B. Biochemical toxicity. A practical approach, Washington: Int press Oxford DC: 1977.
10. Kusumawati S. Pengaruh pemberian jus sayur-sayuran terhadap aktivitas enzim glutation S-transferase sitosol hepar tikus. [Tesis S2]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 1993.
11. Suhartono. Status vitamin A tikus putih yang diberi makan diit balita. [Tesis S2]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 1993.
12. Lestariana W. Pengaruh kandungan vitamin A dalam ransum terhadap efek toksik aflatoksin B₁ pada tikus. [Tesis S3]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 1997.
13. Craddock WE, Mallett AK, Rowland IR. Activation of dietary mutagens by mice. *Chem Biol Interact*, 1992; 71: 367-79.
14. Yoo JH, Yun-Yang Hong, Ning SN, and Yang, CS. Roles of dietary corn oil in the regulation of cytochrome P450 and glutation S- transferase in rat liver. *J Nutrition*, 1990; 120: 1718-26.