

Kontribusi peroksidasi lipid terhadap kerusakan sel hati tikus putih akibat keracunan Aflatoksin β_1

Yanwirasti

Bagian Anatomi

Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang

ABSTRACT

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkapkan kontribusi peroksidasi lipid terhadap kerusakan sel hati akibat keracunan Aflatoksin β_1 .

Penelitian ini bersifat eksperimental murni dengan rancangan faktorial, mempergunakan 3 faktor lama pemberian dan 4 faktor dosis pemberian. Digunakan 96 ekor tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus* galur Wistar), yang berumur \pm 2 bulan, berat badan 180-200g, dibagi atas 12 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri atas 8 ekor tikus yang masing-masing kelompok diberikan Aflatoksin β_1 secara oral dengan dosis 0 μ g, 10 μ g, 15 μ g dan 20 μ g yang dilarutkan dengan 0,2 ml propilen glikol, setiap hari selama 12 minggu, 16 minggu dan 20 minggu. Pada akhir percobaan, masing-masing tikus dimatikan dan diperiksa kadar malonaldehid jaringan hati dengan metode Uchiyama & Mihara (1978), kerusakan sel hati dengan sayatan histologis yang diwarnai dengan hematoxilin eosin. Hasil penelitian dianalisis dengan ANAVA, dengan $p < 0,05$.

Analisis hasil penelitian ini menunjukkan bahwa : 1) ada perbedaan yang sangat nyata antara lama pemberian Aflatoksin β_1 , 12 minggu dengan 20 minggu dengan dosis 10 mg dan 20 mg terhadap peningkatan malonaldehid jaringan hati dan kerusakan sel hati. 2) tidak ada perbedaan yang nyata antara dosis 10 mg AFB₁ dengan 15 mg, atau dosis 15 mg dengan dosis 20 mg dan lama pemberian AFB₁ selama 12 minggu dengan 16 minggu atau 16 minggu dengan 20 minggu terhadap peningkatan kadar malonaldehid jaringan hati. 3) makin lama pemberian dan makin tinggi dosis Aflatoksin β_1 akan semakin meningkatkan kerusakan sel hati.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Aflatoksin β_1 menimbulkan kerusakan sel hati tidak hanya akibat peroksidasi lipid yang terjadi tetapi ditimbulkan juga oleh banyak faktor.

Kata kunci : Aflatoksin β_1 , kerusakan sel hati, peroksidasi lipid

ABSTRACT

The experiment used 96 white rats (*Rattus norvegicus*) with age around eight weeks old and weight 180-200 grams, divided into four groups of 24 rats each, based on the dosages of Aflatoxin B₁ given. Each group was divided further into three subgroups of eight rats based on the length of exposure time of Aflatoxin β_1 .

Four dosages of Aflatoxin β_1 were administered orally everyday into different groups, consisted of 0 μ g, 10 μ g, 15 μ g, and 20 μ g, dissolved in 0.2 ml propylene glycol. Three subgroups received the dosage for 12 weeks, 16 weeks, and 20 weeks. At the end of the experiment, the rats were sacrificed, malondialdehyde were analyzed using Uchiyama and Mihara method. Liver cell damages were examined using histological slices stained by haematoxilin eosin. Data was analyzed using analysis of variance, and $P < 0.05$ was considered to be significantly different.

Data analysis shows that : 1) there were significant differences between the effects of 12 weeks and 20 weeks exposure, and between dosage of 10 μ g and 20 μ g on increasing malondialdehyde of liver tissue and liver cell damage. This also showed that increasing exposure time and dosages of Aflatoxin β_1 increasing in malondialdehyde of liver tissue and liver cell damage. 2) There were no significant differences between dosages 10 μ g and 15 μ g, between 15 μ g and 20 μ g, between 12 weeks and 16 weeks, and between 16 and 20 weeks exposures, on increasing malondialdehyde of the liver tissue. 3) the more Aflatoxin β_1 was given the more liver cells damage. It is concluded that aflatoxin β_1 may cause liver cell damage as the result of liver peroxidation and many other factors as well.

Keywords: Aflatoxin β_1 , liver cell damage, lipid peroxidation

PENGANTAR

Aflatoksin β_1 ($AF\beta_1$), merupakan salah satu persoalan yang serius di bidang higiene makanan, karena disamping bersifat sebagai hepatokarsinogen yang kuat juga mempunyai sifat *clastogenic*, *mito-inhibitory* dan *indirect genotoxic*^{1, 2, 3, 4, 5, 6}

Didalam tubuh $AF\beta_1$ akan menimbulkan kerusakan pada bermacam-macam organ tubuh. Walaupun demikian, hati adalah sasaran utama dengan menimbulkan kerusakan sel hati mulai dari yang ringan seperti degenerasi sampai pada yang berat seperti karsinoma hepatoseluler^{4,5,7}. Namun mekanisme terjadinya kerusakan dan perubahan sel hati akibat pemberian $AF\beta_1$ belum jelas.

Pemberian $AF\beta_1$ yang menimbulkan degenerasi bengkak keruh sampai dengan kematian menandakan telah terjadi kerusakan pada membran sel yang menyebabkan meningkatnya permeabilitas membran sel. Keadaan ini akan meningkatkan kebocoran substansi yang secara normal tidak boleh melewati membran tersebut, seperti Ca^{++} , enzim-enzim intraseluler yang seharusnya berada di dalam sel. Akibat kerusakan membran sel, enzim-enzim tersebut akan keluar dari sel menuju ruang intravaskuler, sehingga kadar enzim tersebut meningkat di dalam serum^{8, 9, 10, 11, 12}.

$AF\beta_1$ dimetabolisme di dalam hati dengan menghasilkan metabolit yang reaktif. Perubahan ini dikatalisasi oleh enzim P-450 dengan cara meng-

oksidasi $AF\beta_1$ melalui reaksi rantai hidroklorasi substrat^{13,14}. Reaksi rantai ini akan menghasilkan $O_2^{\cdot-}$ (superoksida) dan H_2O_2 pada rantai 4 dan 5 rantai hidroklorasi substrat P-450. $O_2^{\cdot-}$ yang terbentuk sangat berbahaya bila terdapat bersamaan dengan H_2O_2 karena dapat membentuk radikal hidroksil (OH^{\cdot}), suatu bentuk ROS yang sangat berbahaya. Disamping itu H_2O_2 yang terbentuk dapat membentuk OH^{\cdot} bila bereaksi dengan logam transisi seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} melalui reaksi Fenton^{15,16,17}.

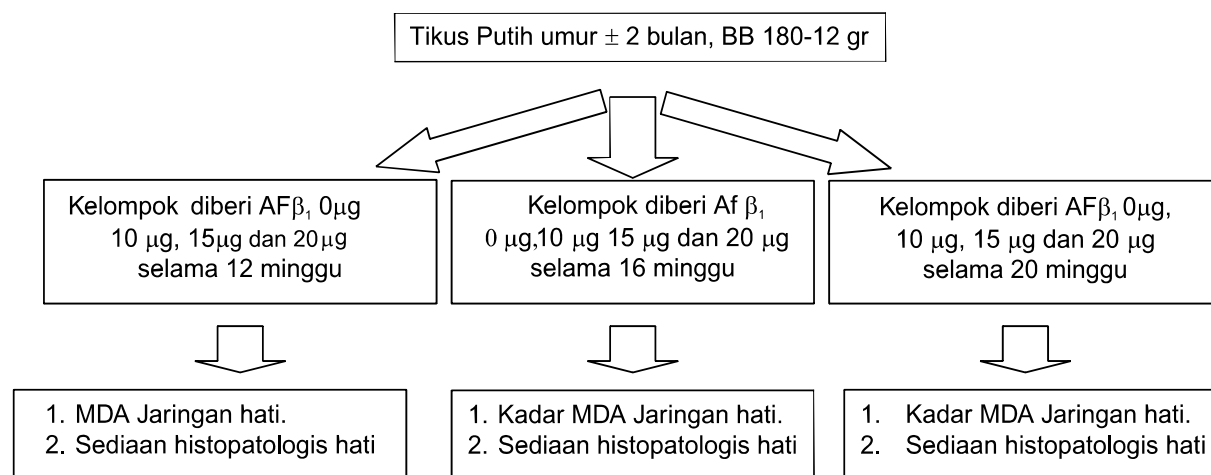
Dalam keadaan normal tanpa induksi pembentukan dan $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 pembentukan OH^{\cdot} dapat diredam oleh enzim antioksidan tubuh seperti katalase dan *superoxide dismutase* (SOD). Tetapi induksi yang terus menerus akan menyebabkan enzim ini lumpuh, sehingga memudahkan pembentukan OH^{\cdot} ¹⁸. Akibat ketidak seimbangan antara pembentukan ROS dengan enzim anti oksidan tubuh akan timbul stres oksidatif. Salah satu tandanya adalah peningkatan peroksidasi lipid^{19,20,21}.

Berdasarkan hal-hal tersebut diatas, maka dalam penelitian ini akan diungkap kontribusi peningkatan peroksidasi lipid terhadap kerusakan sel hati akibat lama pemberian dan kadar $AF\beta_1$.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental murni

Kerangka Operasional Penelitian



Pemeriksaan MDA Jaringan Hati

Penentuan kadar MDA dengan menggunakan Spektrofotometer dilakukan dengan metode Uchiyama dan Mihara (1978), yang berdasarkan fluoresensi yang terbentuk antara senyawa thio barbiturat dengan MDA.

Pemeriksaan Histopatologis Hati

Potongan hati yang sudah diredam dalam formalin 10 %, minimum selama 2 jam diproses dan dibuat sediaan histologis dengan metode laboratorium Anatomi Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga (Hariadi, 2000). Untuk pemeriksaan gambaran histopatologis hati digunakan mikroskop cahaya. Tiap-tiap sediaan sampel penelitian diamati di bawah mikroskop. Dari masing-masing sediaan ditentukan 5 medan pandang mikroskop yang berpusat pada vena sentralis. Pada awal pemeriksaan dilakukan pengamatan secara umum terhadap struktur sel hati, baik yang masih dalam keadaan normal maupun yang mengalami kerusakan. Kemudian dilakukan pemeriksaan dan penghitungan jumlah sel hati yang mengalami kerusakan pada bagian yang padat sel hati dengan berpusat pada vena sentralis. Dihitung sel sebanyak 50 buah dengan pembesaran 400x, dan ditentukan berapa sel yang mengalami bengkak keruh, lemak, nekrosis dan displasia.

ANALISIS DATA

Hasil analisis di laboratorium yang diperoleh terdiri dari hasil analisis MDA jaringan hati, gambaran histopatologis sel hati. Data yang diperoleh dianalisa secara statistik dengan menggunakan analisis ANAVA. Bila terdapat perbedaan diikuti dengan Turkey HSD.

HASIL PENELITIAN

Dalam penelitian ini telah dilakukan pemeriksaan pengaruh AFB₁ terhadap kerusakan sel hati akibat proses oksidatif pada 96 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang berumur lebih kurang dua bulan dengan berat badan antara 180-200g yang dibagi atas 12 kelompok perlakuan.

Hasil analisa statistik penelitian dapat dilihat pada Tabel -Tabel dibawah ini.

1. Pengaruh lama pemberian dan dosis AFB₁ terhadap kadar MDA jaringan hati tikus putih

Hasil analisis pengaruh lama pemberian dan dosis AFB₁ terhadap kadar MDA jaringan hati tikus putih dapat dilihat pada Tabel 1.1, 1.2, 1.3 dan 1.4 di bawah ini.

Tabel 1.1. Nilai rerata kadar MDA (pg/ml) jaringan hati tikus putih akibat pemberian AFB₁ pada bermacam-macam dosis dan lama pemberian

Lama Pemberian	Nilai rerata kadar MDA setelah pemberian Afβ ₁ (μg)			
	0	10	15	20
12 minggu	0,12 ± 0,025	0,21 ± 0,02	0,24 ± 0,03	0,24 ± 0,01
16 minggu	0,13 ± 0,01	0,23 ± 0,03	0,25 ± 0,03	0,26 ± 0,02
20 minggu	0,13 ± 0,01	0,26 ± 0,03	0,32 ± 0,03	0,35 ± 0,07

Tabel 1.2. Hasil analisis kadar MDA (pg/ml) jaringan hati tikus putih pada bermacam-macam dosis pemberian AFB₁

	Dosis Afβ ₁ (μg)			
	0	10	15	20
Rata-rata Kadar MDA	0,12 ^a	0,23 ^b	0,27 ^c	0,28 ^c
Simpangan Baku	0,02	0,04	0,05	0,06

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$).

Hasil analisis pengaruh lama pemberian AFB₁ terhadap kadar MDA jaringan hati tikus putih dapat dilihat pada Tabel 1.3.

Tabel 1.3 Hasil Analisis kadar MDA (pg/ml) jaringan hati tikus putih pada bermacam-macam lama pemberian AF β_1

	12	16	20
Rata-rata Kadar MDA	0,20 ^a	0,22 ^a	0,27 ^b
Simpangan Baku	0,06	0,06	0,09

Keterangan: Rerata yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$).

Hasil analisis pengaruh interaksi dosis dan lama pemberian AF β_1 terhadap MDA jaringan hati tikus putih dapat dilihat pada Tabel 1.4.

2. Pengaruh lama pemberian dan dosis AF β_1 terhadap kerusakan sel hati tikus putih

Hasil analisis pengaruh lama pemberian dan dosis AF β_1 terhadap kerusakan sel hati tikus putih dapat dilihat pada Tabel 2.1, 2.2, 2.3 dan 2.4

Tabel 1.4. Hasil analisis interaksi dosis dan lama pemberian AF β_1 terhadap kadar MDA (pg/ml) jaringan hati tikus putih

Dosis	0			10			15			20				
	Lama	12	16	20	12	16	20	12	16	20	12	16	20	
0	12	-	ns	ns	s	s	s	s	s	s	s	s	S	
	16		-	ns	s	s	s	s	s	s	s	s	S	
	20			-	s	s	s	s	s	s	s	s	S	
10	12				-	ns	s	ns	ns	s	ns	ns	S	
	16					-	ns	ns	ns	s	ns	ns	S	
	20						-	ns	ns	s	ns	ns	S	
15	12							-	ns	s	ns	ns	S	
	16								-	s	ns	ns	S	
	20									-	s	s	Ns	
20	12											-	ns	S
	16												-	S
	20													-

ns = tidak bermakna ($p > 0,05$); s = bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 2.1. Nilai rerata sel hati tikus putih yang rusak akibat pemberian AF β_1 menurut dosis dan lama pemberian yang berbeda / 50 sel

Lama Pemberian	Nilai rerata sel hati yang rusak setelah pemberian Af β_1 (μ gr)/50 sel			
	0	10	15	20
12 minggu	0	73,78 \pm 3,54	80,38 \pm 3,54	95,88 \pm 8,00
16 minggu	0	81,75 \pm 5,44	102,88 \pm 8,98	117,75 \pm 13,50
20 minggu	0	99 \pm 9,18	123,25 \pm 9,78	137,88 \pm 16,82

Hasil analisis pengaruh dosis AF β_1 terhadap kerusakan sel hati dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2. Hasil analisis jumlah sel hati tikus putih yang rusak akibat pemberian AF β_1 pada bermacam-macam dosis

	Dosis Af β_1 (μ g)			
	0	10	15	20
Rerata Kerusakan Sel Hati	0 ^a	84,71 ^b	102,17 ^c	117,17 ^d
Simpangan Baku	0	12,54	19,76	21,69

Keterangan: Rerata yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$).

Hasil analisis pengaruh lama pemberian $AF\beta_1$ terhadap kerusakan sel hati tikus putih dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3. Hasil analisis jumlah kerusakan sel hati tikus putih akibat pemberian $AF\beta_1$ pada bermacam-macam lama pemberian

	Lama Pemberian $AF\beta_1$ (minggu)		
	12	16	20
Rerata Kerusakan Sel Hati	62,41 ^a	75,59 ^b	90,03 ^c
Simpangan Baku	37,95	46,92	55,61

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$).

Hasil analisis pengaruh interaksi dosis dan lama pemberian $AF\beta_1$ terhadap kerusakan sel hati tikus putih dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4. Hasil analisis interaksi dosis dan lama pemberian $AF\beta_1$ terhadap kerusakan sel hati tikus putih

Dosis	Lama	0			10			15			20		
		12	16	20	12	16	20	12	16	20	12	16	20
0	12	-	ns	ns	s	s	s	s	s	s	s	s	s
	16		-	ns	s	s	s	s	s	s	s	s	s
	20			-	s	s	s	s	s	s	s	s	s
10	12				-	s	ns	s	ns	s	s	s	s
	16					-	s	ns	s	s	ns	s	s
	20						-	s	ns	s	ns	s	s
15	12							-	s	s	s	s	s
	16								-	s	ns	s	s
	20									-	s	ns	s
20	12										-	s	s
	16											-	s
	20												-

Keterangan : ns = tidak bermakna ($p > 0,05$); s = bermakna ($p < 0,05$)

PEMBAHASAN

1. Pengaruh lama pemberian dan dosis $AF\beta_1$ terhadap kadar MDA jaringan hati tikus putih

Hasil penelitian yang didapatkan menunjukkan terjadi peningkatan kadar MDA jaringan hati tikus putih setelah pemberian $AF\beta_1$ 10 mg, 15 mg dan 20 mg baik selama 12 minggu, 16 minggu maupun 20 minggu. Ini menunjukkan ketidak mampuan enzim SOD dan katalase jaringan hati tikus putih menetralkan dan H_2O_2 yang terbentuk akibat proses oksidatif pada biotransformasi $AF\beta_1$ yang dikatalisator oleh enzim P-450 sehingga terbentuk OH° suatu bentuk ROS yang sangat berbahaya. OH° mempunyai target pada tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel yaitu lipid, protein dan DNA. Pada membran lipid OH° menimbulkan kerusakan melalui serangkaian kegiatan yang dikenal dengan peroksidasi lipid dan

akan menghasilkan produk dekomposisi lipid. Produk ini mempunyai bermacam-macam bentuk, salah satunya adalah malonaldehid. Pada penelitian ini hanya akan diukur kadar MDA saja, karena mudah dideteksi dengan test TBA yang merupakan satu pemeriksaan yang sederhana, tetapi cukup akurat, karena kenaikan MDA menggambarkan terjadinya peningkatan peroksidasi lipid (Shen, 1994).

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa peningkatan kadar MDA jaringan hati akan semakin meningkat pada peningkatan dosis, dimana pemberian $AF\beta_1$ 10 mg akan meningkatkan kadar MDA jaringan hati yang berbeda secara bermakna ($p=0,000$) dengan tikus putih yang mendapat $AF\beta_1$ 15 mg ($p=0,001$) dan tikus-tikus putih yang mendapat $AF\beta_1$ 20 mg (0,000). Hasil ini menunjukkan bahwa makin tinggi dosis $AF\beta_1$ yang diberikan akan meningkatkan peroksida lipid, sebagai akibat dari semakin ketidak mampuan enzim SOD dan katalase menetralkan dan

H₂O₂ yang terbentuk akibat proses oksidatif pada biotransformasi AFβ₁ yang dikatalisator enzim sitokrom P-450.

Ditinjau dari lama pemberian AFB₁, ternyata semakin lama pemberian AFβ₁ akan semakin meningkatkan kadar MDA jaringan hati tikus putih. Ini disebabkan semakin lama pemberian AFB₁ akan semakin meningkatkan pembentukan dan H₂O₂ akibat proses oksidatif pada biotransformasi AFβ₁ oleh enzim sitokrom P-450.

2. Pengaruh lama pemberian dan dosis AFβ₁ terhadap kerusakan sel hati

Pemeriksaan secara makroskopik dapat dilihat bahwa warna hati pada tikus putih yang tidak mendapat AFβ₁ terlihat berwarna coklat kemerahan, warna yang terdapat pada hati yang normal. Pemberian AFβ₁ 10 mg, 15 mg dan 20 mg selama 12 minggu, 16 minggu dan 20 minggu akan merubah warna hati mulai dari coklat pucat kekuningan sampai coklat kekuningan dengan belang putih. Warna pucat kekuningan disebabkan oleh karena sel hati mengalami degenerasi, sedangkan warna kuning dengan belang putih disebabkan karena sel hati sudah mengalami nekrosis (Cotran *et al.*, 1999). Warna hati kekuningan dengan belang putih terlihat makin meningkat dengan makin lamanya pemberian dan makin meningkatnya dosis AFβ₁. Hal ini menunjukkan bahwa makin banyak sel hati yang mengalami kerusakan dengan makin meningkatnya dosis dan lama pemberian AFβ₁. Pada pemeriksaan secara makroskopik tidak ditemukan nodul-nodul yang menandakan telah terjadi keganasan.

Secara mikroskopik, dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kerusakan sel hati tikus putih berbeda secara bermakna antara pemberian AFβ₁ 10 mg, 15 mg dan 20 mg dengan tikus-tikus putih yang tidak mendapat AFβ₁. Demikian pula dengan lama pemberian, kerusakan sel hati ternyata berbeda bermakna antara pemberian 12 minggu, 16 minggu dan 20 minggu. Bila dihubungkan dengan kadar MDA jaringan hati, ternyata kerusakan sel hati lebih tinggi dari pada kadar MDA yang merusak membran lipid. Ini menunjukkan bahwa proses oksidatif yang menimbulkan kerusakan sel hati tidak saja disebabkan oleh peroksidasi lipid, tapi juga disebabkan oleh banyak faktor.

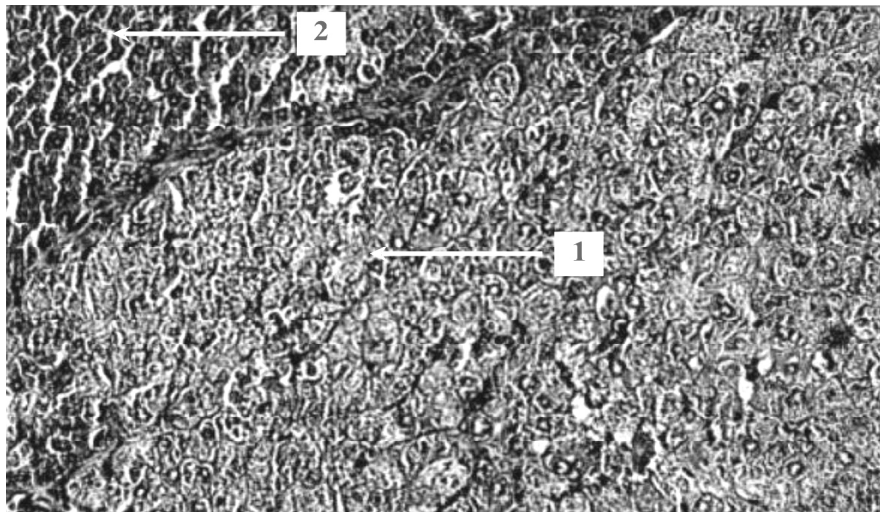
Sel yang dipapari dengan stres oksidatif yang kuat akan mengalami kematian. Keadaan ini terjadi juga didalam penelitian ini, dimana didapatkan bahwa sel hati mengalami nekrosis pada setiap pemberian AFβ₁, dan pada setiap lama pemberian, dimana makin lama pemberian dan semakin meningkat

dosis akan menambah kematian sel. Kematian sel hati akibat paparan AFβ₁ ini disebabkan oleh beberapa faktor :

1. Stres oksidatif yang kuat akan mengakibatkan penipisan ATP semakin buruk, sehingga sitoskeleton akan terurai.
2. Peningkatan ROS yang dihasilkan oleh induksi AFβ₁ juga akan meningkatkan aktivasi PARP, sehingga terjadi deplesi NAD⁺ atau NADP⁺. Akibatnya sel tidak dapat lagi membuat ATP yang akan menyebabkan sel menjadi mati.
3. Penyebab kematian sel yang lain adalah karena peningkatan kadar Ca⁺⁺ intraseluler yang akan mengubah sejumlah aktivitas enzim yang berpotensi merusak sel, seperti fosfolipase, protease dan endonuklease.
4. Akibat induksi AFβ₁ yang meningkatkan pembentukan ROS akan menimbulkan pembengkakan mitokondria, yang akan mempercepat kematian sel karena terbukanya porus antara membran dalam dan luar mitokondria. Pembukaan porus ini akan menyebabkan tumpahnya isi matriks mitokondria, sehingga fosforilasi oksidatif mitokondria mengalami krisis.
5. Peningkatan MDA yang menandakan peningkatan peroksidasi lipid juga mempercepat kematian sel hati dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sel.

Ditinjau dari interaksi dosis dan lama pemberian AFβ₁, ternyata pemberian AFβ₁ 20 mg selama 20 minggu, berbeda secara bermakna dengan pemberian AFβ₁ 10 mg selama 10 minggu, 15 minggu dan 20 minggu, pemberian AFβ₁ 15 mg selama 12 minggu, 16 minggu dan 20 minggu serta pemberian AFβ₁ 20 mg selama 10 minggu dan 16 minggu. Hal ini juga membuktikan bahwa semakin lama pemberian AFβ₁ semakin tinggi kerusakan sel hati tikus putih. Pada penelitian juga didapatkan AFβ₁ 10 mg selama 12 minggu lebih banyak sel hati yang mengalami degenerasi bengkak keruh. Makin tinggi dosis pemberian AFβ₁ dan makin lama pemberian AFβ₁ degenerasi bengkak keruh makin berkurang, tetapi sel hati yang mengalami nekrosis bertambah banyak. Hal ini menunjukkan makin tinggi kadar MDA yang terbentuk makin tinggi terjadi peroksidasi lipid sehingga disregulasi Ca⁺⁺ dan deplesi ATP akan semakin meningkat sehingga akan meningkatkan pula kerusakan sel hati tikus putih.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kerusakan sel hati akibat AFβ₁ bukan sepenuhnya disebabkan oleh peroksidasi lipid saja, tetapi banyak



Gambar 1. sel hati tikus putih yang mengalami nekrosis hebat setelah di induksi $AF\beta_1$ 20 mg selama 20 minggu. 1. Nekrosis, 2. Sel Normal (HE, 200x)

disebabkan oleh faktor-faktor lain seperti kerusakan membran plasma, kerusakan mitokondria, disregulasi Ca^{++} dan deplesi ATP. Kerusakan sel hati melalui proses oksidatif ini juga akan diperparah oleh kerusakan protein dan kerusakan DNA. Semakin lama dan semakin tinggi dosis $AF\beta_1$ akan menyebabkan semakin tinggi kerusakan sel hati tikus putih.

KESIMPULAN

1. Peningkatan peroksidasi lipid mempunyai kontribusi dalam kerusakan sel hati akibat pemberian $AF\beta_1$.
2. Ternyata banyak faktor-faktor yang berperan dalam menimbulkan kerusakan sel hati akibat pemberian $AF\beta_1$ disamping peningkatan peroksidasi lipid.

KEPUSTAKAAN

1. World Health Organization. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to human international agency for research on cancer. 1993; 56: 268.
2. Van Gijssel HE, Maasen CBM, Mulder GJ and Meerman JHN. p53 protein expression by hepatocarcinogens in rat liver and its potential role in mitoinhibition of normal hepatocytes as a mechanism of hepato tumour promotion. *Carcinogenesis*, 1997; 18 (5): 1027-33.
3. Chao HK, Tsai TF, Lin CS and Su TS. Evidence that mutational activation of the ras genes may not be involved in aflatoxin B_1 induced human hepatocarcinogenesis, based on sequence analysis of

the ras and p53 genes. *Mol carcinog.* 1999; 26 (2): 69-73.

4. Foster PL and Rosche WA. Aflatoxins. Academic Press : 2001; 21-22.
5. Stern MA, Umbach DM, Yu MC, London SJ, Zhang ZQ and Taylor JA. Hepatitis B, aflatoxin β_1 and p53 codon 249 mutation in hepatocellular carcinomas from Guang Xi, People's Republic of China and meta analysis of existing studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2001; 10 : 617-25.
6. Smella ME, Currier SS, Bailey EA and Essigmarin JE. The chemistry and biology of aflatoxin B_1 : from mutational spectrometry to carcinogenesis, *Carcinogenesis*, 2001; 22(4): 535-45.
7. Bioulac-Sage P, Le Bail B and Balaband C.. Liver and biliary tract histology In (Bircher J, Berhamou JP, Mc Intyre N, Rizzeto M and Rodes J, eds). *Oxford Textbook of Clinical Hepatology 2nd ed.* Oxford : Oxford University Press, 1999: 13-15.
8. Sherlock S. Anatomy and Functional. In *Disease of the liver and biliary system*. Blackwell Scientific Publication, 1989; 1-17.
9. Cotran RS, Vinary K and Tucker C. Tissue Repair : Cellular Growth, Fibrosis and Wound healing. In *Pathologic Basis of Disease, 6th ed*, Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1999: 90-98.
10. Halliwell B and Gutteridge JMC. Oxidative stress: adaptation, damage repair and death. In *Free radical in biology and medicine*. New York : Oxford University, 1999: 267-76.
11. Fanbion WA and Goes GJ. Death Receptors in Liver Biology and Pathobiology. *Hepatology* : 1999; 29 (1): 1-4.
12. Widodo MA. Calcium dan Generasi spesies oksigen reaktif pada fungsi mitokondria. *Basic molekuler*.

- Biology comse on mitochonrial medicine. 1-2 Agustus : 2003; 15-31.
13. Lestariana W. Pengaruh kandungan vitamin A dalam ransum terhadap efek toksik aflatoksin B₁ pada tikus (*Rattus Norvegicus*). Disertasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, 1997.
 14. Mace K et al., Afltoxin B₁ – induced DNA adduct formation and p53 mutations in CY P-450 – expressing human liver cell lines. *Carcinogenesis* ; 1997; 18(7): 1291-97.
 15. Halliwell B, Gutteridge JMC. The chemistry of free radicals and related reactive species. In *Free Radicals in Biology Medicine*. New York : Oxford University, 1999; pp 48-95.
 16. Freisleben HJ. Free Radicals and the Antioxidant network In (Freisleben HJ and Deisinger, eds) *Free radical-related diseases and antioxidants in Indonesia*, St Agustin : Gardez ! Verlag; 1999; pp 1-10.
 17. Suryohudoyo, P, Oksidan, Antioksidan dan radikal bebas. *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler. Info Medika*. Jakarta : 2000; 31-47.
 18. Mc. Cord JM. The importance of oxidant – Anti-oxidant Balance. In (Montagner L, Olivier R and Pasquter C, eds). *Oxidative stress in cancer, AIDS, and neurodegenerative disease*. New York. Basel. Hongkong : Marcel Dekher, Inc. 1998: 1-9.
 19. Gutteridge JMC, 1995. Lipid peroxidation and anti-oxidans as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem* 41(12) : 1819-28.
 20. Ramelan. Antioksidan : Perannannya dalam kedokteran. *Medika* : 6 (29) : 2003; 370-72.
 21. Setiati S. Radikal bebas, antioksidan dan Proses Menua, *Medika* 6 (24) : 2003; 366-69.