

ISSN 2015-8930

MEDIA

Kedokteran Hewan

Veterinary Medicine Journal



MKH (Vet.Met.J.)	Vol. 23	No. 2	Hal 68-131	Surabaya, Mei 2007	ISSN 2015-8930
------------------	---------	-------	------------	--------------------	----------------

Akreditasi Dirjen Dikti No. 23a/Dikti/Kep/2004

Media Kedokteran Hewan

Vol. 23, No. 2, Mei 2007

Media Kedokteran Hewan memuat tulisan ilmiah dalam bidang Kedokteran Hewan dan
Peternakan

Terbit pertama kali tahun 1985 dengan frekuensi terbit tiga kali satu tahun pada bulan
Januari, Mei dan September

Susunan Dewan Redaksi

Ketua Penyunting :
Epy Muhammad Luqman

Sekretaris :
Erma Safitri

Bendahara :
Diah Kusumawati Gali

Iklan dan Langganan :
Budiarto

Penyunting Pelaksana :
Sri Subekti Bendryman Soedjoko
Mas'ud Hariadi
Fedik Abdul Rantam
Suwarno
Sri Agus Sudjarwo

Penyunting Teknik :
Kusnoto
Thomas Valentinus Widiyatno

Tata Usaha :
Berty Ferijanti

Alamat: Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Kampus "C" Unair, Mulyorejo Surabaya 60115
Telp. (031) 5992785; 5993016; Fax. (031) 5993015
e-mail: mkh_ua@yahoo.com
Rekening: Tahapan BCA - No. 01-4018-9375 (Dr. Diah Kusumawati G.)

Media Kedokteran Hewan diterbitkan oleh Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.
Akreditasi Dirjen Dikti No. 23a/Dikti/Kep/2004.

Media Kedokteran Hewan

Vol. 23, No. 2, Mei 2007

Terbit tiap 4 bulan sekali, pada bulan Januari, Mei dan September

DAFTAR ISI

	Halaman
12 Patogenisitas Molekuler Virus Avian Influenza (AI) di Jakarta, Banten dan Jawa Barat pada Wabah AI tahun 2005 (NLP Indi Dharmayanti dan Risa Indriani)	68 – 73
13 Mutasi <i>Trichoderma sp.</i> untuk Meningkatkan Sekresi Selulase (Ali-Mursyid W.M., M. Nur Cahyanto, Sardjono, Zuprizal, dan Zaenal Bachruddin)	74 – 79
14 Identifikasi Protein Imunogenik Skizon <i>Leucocytozoon sp.</i> untuk Pengembangan Kit Diagnostik (Endang Suprihati, Nunuk Dyah Retno Lastuti, dan Ririen Ngesti Wahyuti)	80 – 87
15 Studi Tentang Protein Organ Hati yang Berinteraksi dengan Aflatoksin B ₁ (Eko S. Pribadi, I Wayan T. Wibawan, Fachriyan H. Pasaribu, dan Rizal Syarief)	88 – 95
16 Kajian Antiproliferatif <i>In Vitro</i> Ekstrak Daun Benalu Duku (<i>Loranthaceae dendrophthoe spec.</i>) terhadap Sel Mieloma (T.V. Widiyatno, Nanik Sianita, Nuraini Farida, Sri Susilo, Lazuardi M)	96 – 101
17 Insidensi dan Pengobatan Endometritis Menggunakan Antibiotik Intra Uteri pada Kuda Betina (Amrozi)	102 – 105
18 Pengaruh Pemberian Multivitamin dan Gonadotrophin Releasing Hormone (GnRH) Terhadap Angka Kebuntingan pada Sapi Brahman Silangan Postpartum (Kori Karim, Aris Junaidi, dan Prabowo Purwono Putro)	106 – 109
19 Fertilitas Sapi Perah yang Disinkronisasi Birahi dengan Prostaglandin F _{2a} secara Submukosa Vulva (Pudji Srianto dan Soehartojo Hardjopranjoto)	110 – 115
20 Nilai Gizi Beberapa Jenis Formula Pakan Anjing Bentuk Biskuit dengan Sumber Protein Hewani yang Berbeda (Christian, B.D.W dan Romziah S.B.)	116 – 119
21 Kandungan Bahan Kering, Serat Kasar dan Protein Kasar Jerami Padi yang Diamoniasi dan Difermentasi dengan Bakteri Selulolitik dari Feses Jerapah (Koesnoto Soepranianondo dan Virianti Tandra)	120 – 125
22 Kinetika Degradasi Bahan Kering dan Bahan Organik Manure Ayam dalam Haylase Pakan Lengkap (Widya Paramita Lokapirnasari dan Waluyo Edi Susanti)	126 – 131

Studi Tentang Protein Organ Hati yang Berinteraksi dengan Aflatoxin B₁

Study On Liver Organ Proteins Which Interacted To Aflatoxin B₁

Eko S. Pribadi², I Wayan T. Wibawan², Fachriyan H. Pasaribu², Rizal Syarif³

¹Bagian Mikrobiologi Medik Departemen Ilmu Penyakit Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Kampus Dramaga Jl. Agatis Dramaga Bogor 16680. Telp./Fax. (0251) 625959 Email: eko.spribadi@yahoo.co.id; ²Departemen Teknologi Pangan Dan Gizi Fakultas Teknologi Pertanian Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor

Abstract

Biotransformation and bioactivation of aflatoxin play important roles in the activity of aflatoxin. These processes take place in liver cell. The soluble intracellular aflatoxin B₁-binding protein (PAB₁) was isolated using the affinity chromatography technique. For this, the AFB₁ was immobilized on Br-CN activated nitrocellulose, and then incubated with duck and chicken liver crude extract containing the protein. The protein concentration in the duck liver was 0.4310 mg/ml and 0.3946 mg/ml in chicken liver. Two major protein bands (66 and 25 kDa) were expressed by the PAB₁ isolated from liver of chicken while only one protein band (66 kDa) was observed in PAB₁ isolated from liver of duck. The immunohistochemistry technique was used to explore the distribution of PAB₁ in liver tissues. It was found that PAB₁ could be detected in both duck and chicken liver preparations. The dissemination of PAB₁ was wider in duck liver compared to chicken.

Key words: aflatoxin B₁, PAB₁, PAB₁ distribution

Pendahuluan

Satu survei yang pernah dilakukan oleh Tsuboi *et al.* (1984) melaporkan bahwa 20% sukarelawan yang dinyatakan sehat pada waktu itu mengandung aflatoxin B₁ di dalam darahnya. Sebanyak 23% penderita *primary hepatocellular carcinoma* (PHC) akut dan kronis di dalam darahnya juga mengandung aflatoxin B₁. Pada ternak ayam, akumulasi aflatoxin terjadi di organ hati, limpa dan ginjal dengan tingkat kerusakan terparah pada organ hati (Pribadi dan Patriana, 1996). Intoksikosis aflatoxin yang bersifat akut dapat menyebabkan kematian ternak ayam tanpa memperlihatkan gejala klinis. Pemeriksaan dengan melakukan bedah bangkai akan menemukan perubahan patologik berupa pembesaran hati atau hepatomegali (Espada *et al.*, 1992). Ternak bebek dan kalkun memiliki tingkat kerentanan yang lebih tinggi dibandingkan ternak ayam.

Rusaknya sel-sel hati yang diakibatkan oleh aflatoxin telah diamati oleh beberapa peneliti baik pada hewan (Chen *et al.*, 1994; Jennings *et al.*, 1994) maupun pada manusia (Cole *et al.*, 1989; Begue *et al.*, 1988). Beberapa tanggap seluler sel hati hewan yang mengalami aflatoxikosis dapat berupa kejadian peroksidasi lipida (Shen *et al.*, 1994), perubahan keutuhan membran dan penghambatan enzim *glutathione-S-transferase* (Jennings *et al.*, 1994), peningkatan aktivi-

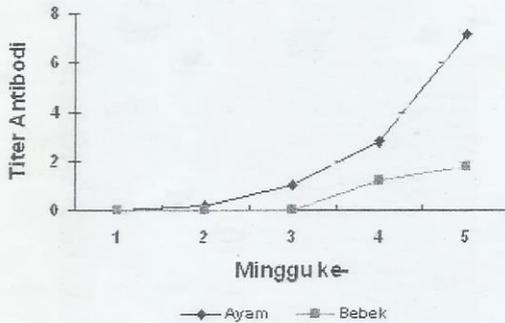
tas sangat tinggi pada sitokrom dari sel-sel hepatic yang mengiringi proses pembesaran organ hati (Iwaki *et al.*, 1990).

Tingkat kerusakan sel-sel hati dalam kasus karsinoma hepatoseluler pada hewan percobaan telah diteliti oleh beberapa peneliti. Nunez *et al.* (1991) mendapati organ hati yang mengalami karsinoma hepatoseluler akan kehilangan hubungan antara hepatosit dan sinusoid, antara hepatosit dan sistem saluran empedu dan antara hepatosit itu sendiri. Pritchard dan Butler (1988) mendapatkan perkembangan pembentukan tumor hati dapat ditandai dengan adanya nodul-nodul yang bersifat eosinofilik di dalam sel.

Proses biotransformasi yang terjadi di dalam organ hati merupakan tahap awal yang sangat penting bagi aflatoxin. Aflatoxin mengalami bioaktivasi setelah melalui proses biotransformasi sehingga bersifat radikal, toksik dan memberikan efek karsinogenik. Proses biotransformasi aflatoxin dimulai dengan terjadinya oksidasi di dalam sitokrom P-450 dan selanjutnya akan menghasilkan berbagai metabolit aflatoxin dengan tingkat toksisitas yang tidak lebih rendah dari senyawa awalnya (Eaton dan Groopman, 1994).

Hao *et al.* (1999) mendapatkan bahwa ada protein di dalam sel hati yang mampu terikat dengan toksin okhratoksin-A. Hasil yang mirip diperoleh

terhadap PAB₁ ayam telah dapat dideteksi pada minggu ke-3 periode penyuntikan dengan titer yang lebih tinggi. Antibodi kelinci terhadap PAB₁ bebek baru terdeteksi pada minggu ke-4. Panen serum untuk kedua preparat (PAB₁ ayam dan bebek) dilakukan pada minggu ke-5 (Gambar 3). Antibodi terhadap PAB₁ ayam dan bebek dapat dideteksi pada beberapa serum kelinci yang digunakan.



Gambar 3. Titer antibodi poliklonal APAB₁ yang dihasilkan oleh kelinci yang disuntik dengan PAB₁ dari hati ayam dan bebek melalui *v. Auricularis*.

Adanya reaksi silang antara APAB₁ bebek dan ayam diketahui melalui uji imunodifusi. Hasil uji tersebut diperoleh data bahwa APAB₁ bebek berikatan secara homolog dengan PAB₁ ayam dan sebaliknya (Gambar 4: a dan b). Laporan ilmiah yang sejenis belum dapat diperoleh sampai saat ini. APAB₁ yang diperoleh dapat dimanfaatkan untuk uji imunositokimiawi.

Pemeriksaan Histologik dan Imunositokimiawi PAB₁ di Preparat Jaringan Hati Sehat

Status kesehatan hati dilihat dari gambaran histologik hepatosit yang tersusun membentuk tuberkula-tuberkula dalam lobulus. Hasil pewarnaan HE dari jaringan hati ayam dan bebek memperlihatkan bahwa hepatosit tertata rapih membentuk lobulus-lobulus, gambaran sinusoid dan *v. sentralis* normal. Keadaan ini menunjukkan bahwa kedua organ tersebut dalam kondisi sehat (Gambar 5 dan 6).

Uji imunohistokimiawi menggunakan jaringan hati yang sehat karena penelitian ini bertujuan untuk memperlihatkan keberadaan PAB₁ di jaringan hati dalam kondisi fisiologis (*in situ*). Selain itu, keberadaan PAB₁ yang utuh akan lebih mudah dikenali oleh APAB₁.

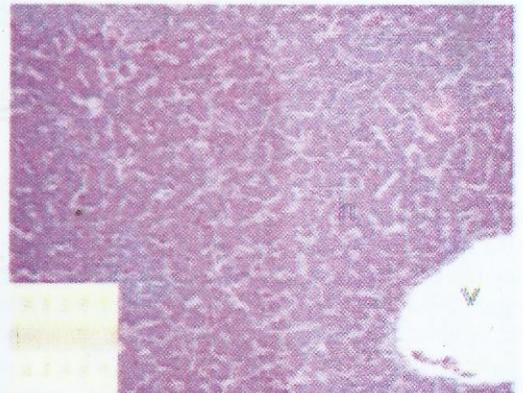


(a)

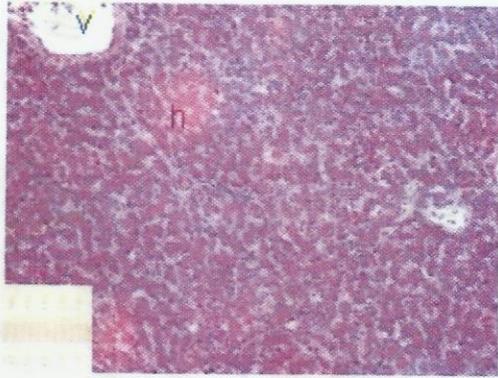


(b)

Gambar 4. Garis presipitasi (tanda panah) dari hasil uji silang antara PAB₁ dari organ hati bebek dengan APAB₁ yang digetok dengan PAB₁ dari organ hati ayam (a) dan PAB₁ dari organ hati ayam dengan APAB₁ yang digetok dengan PAB₁ dari organ hati bebek (b).



Gambar 5. Gambaran histologik jaringan hati ayam yang sehat (Pewarnaan HE, pembesaran obyektif: 10 x, 1 bar = 10 μm).



Gambar 6. Gambaran histologik jaringan hati bebek yang sehat (Pewarnaan HE, pembesaran obyektif: $10 \times$, 1 bar = $10 \mu\text{m}$).

Pada Gambar 5 dan 6 memperlihatkan sel-sel hepatosit (h) yang tersusun rapi mengelilingi *v. sentralis* (v).

PAB₁ di jaringan hati dapat dikenali dengan menggunakan uji imunositokimiawi setelah preparat diwarnai dengan enzim deaminobenzidin dan muncul endapan berwarna coklat-kehitaman. Lokasi endapan berwarna ini menandakan keberadaan PAB₁ di jaringan hati (Gambar 7a-b). Warna endapan pada preparat hati bebek lebih gelap dibandingkan pada preparat hati ayam. Populasi PAB₁ pada organ hati bebek lebih padat dibandingkan dengan populasi protein yang ada di hati ayam ($p \leq 0,05$). Perbedaan kepadatan PAB₁ dapat dijadikan indikator untuk menerangkan perbedaan kerentanan ayam dan bebek terhadap AFB₁. Kerentanan bebek terhadap keracunan AFB₁ ternyata selaras dengan kepadatan PAB₁ di jaringan hatinya. Ayam yang kurang rentan terhadap AFB₁ memiliki kepadatan PAB₁ yang lebih rendah dibandingkan bebek.

Kepekaan bebek terhadap AFB₁ dapat diterangkan lebih lanjut karena tidak hanya sebaran PAB₁ di jaringan hati. Akan tetapi, PAB₁ terdapat juga di endothelial pembuluh darah vena sentral jaringan hati (Gambar 8).

Adanya PAB₁ di lokasi ini diduga karena peranannya untuk menangkap AFB₁ yang masuk melalui aliran darah vena sentral. Di dalam vena tersebut juga terlihat adanya endapan coklat-kehitaman yang memberikan indikasi bahwa di dalam pembuluh darah tersebut terdapat juga PAB₁. Hasil tersebut menimbulkan dua kemungkinan. Yang pertama, endapan tersebut bukanlah PAB₁. Melainkan adanya ikatan peroksidase yang ada di dalam darah dengan diaminobenzidin. Peroksidase yang terdapat di dalam darah adalah peroksidase bebas, sedangkan peroksidase yang ada di dalam jaringan adalah peroksidase yang terikat pada

antibodi sekunder anti kelinci. Yang kedua, endapan tersebut memanglah PAB₁. Sabbioni *et al.* (1987) mendapati bahwa ikatan kovalen antara protein-AFB₁ telah terjadi sejak di aliran darah, lumen usus dan dinding usus, sehingga tidak tertutup kemungkinan bahwa sebenarnya PAB₁ tidak hanya berada di daerah jaringan hati, tetapi terdapat juga di plasma darah, lumen usus dan dinding usus.



(a)

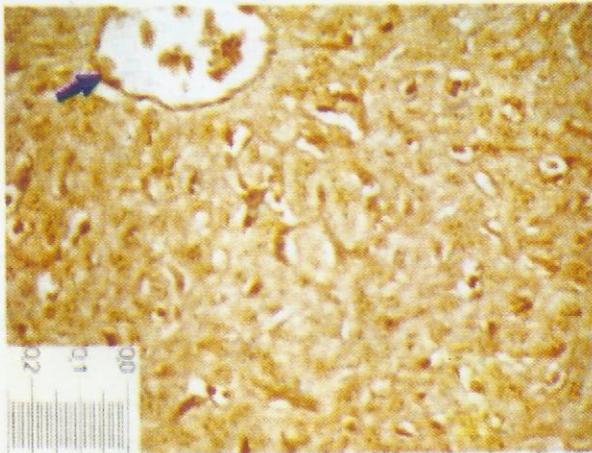


(b)

Gambar 7. Hasil pewarnaan imunositokimiawi hati ayam (a) dan hati bebek (b). Endapan berwarna coklat-kehitaman (tanda panah) menandakan di lokasi tersebut terdapat PAB. (Pembesaran obyektif: $10 \times$, 1 bar = $10 \mu\text{m}$).

Untuk melihat posisi protein PAB₁, pengamatan mikroskopik diperjelas lagi dengan meningkatkan pembesaran lensa. Pada Gambar 9 terlihat jelas bahwa PAB₁ tidak terletak di dalam hepatosit jaringan hati ayam maupun bebek, tetapi berada di dalam sinusoid. Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Hao *et al.* (1999) yang mendapatkan protein intraseluler terikat okhratoksin dari organ hati sapi. Diperlukan penelitian lebih mendalam untuk menelaah apakah perbedaan hasil ini dikarenakan toksin yang digunakan berbeda. Dari

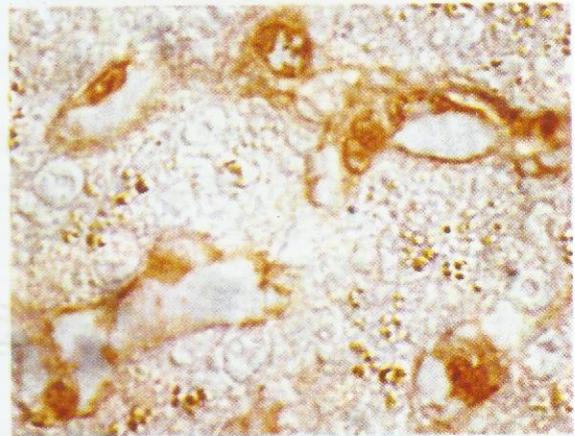
penelitian yang dilakukan oleh Ewaskiewicz *et al.* (1991) dijelaskan bahwa AFB₁ dapat terikat dengan kuat pada mikrosom, sitosol, mitokondria dan inti (fraksi deoksiribonukleat).



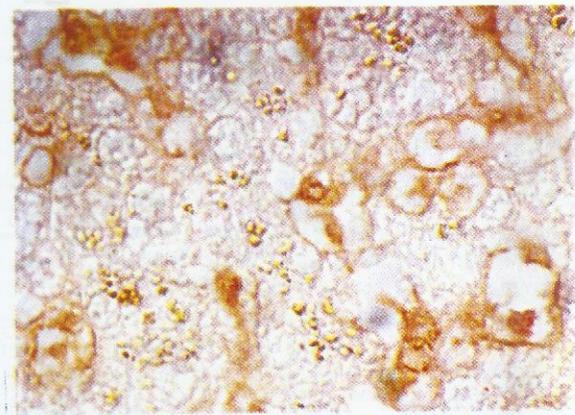
Gambar 8. Keberadaan PAB₁ di dalam endothelial pembuluh darah vena sentralis (tanda panah) dari hati bebek yang diwarnai dengan teknik imunositokimiawi. (Pembesaran obyektif: 20 x, 1 bar = 10 µm).

Di daerah sinusoid terdapat beberapa sel non-parenkim, diantaranya sel-sel endothelial, sel Kupffer yang merupakan makrofag organ hati, *pit cell* dan *perisinusoidal stellate cells*. Sel Ito merupakan nama baru dari *perisinusoidal stellate cells* dan sel ini memiliki kandungan butiran lemak yang berlimpah. Sel Ito berperan sebagai pusat metabolisme Vitamin A dan menerima karbon dioksida yang dikeluarkan oleh sel hati sehingga fungsi sel hati tidak mengalami gangguan. Fungsi utama sel Ito terlihat ketika sel-sel hati mengalami proses memperbaiki diri (Suematsu dan Aiso, 2001). Bila melihat letaknya di daerah sinusoid, sel Ito kemungkinan melakukan kontak terlebih dahulu dengan AFB₁ yang masuk melalui pembuluh darah. AFB₁ bisa saja tertangkap oleh sel Ito karena sifat AFB₁ yang lipofilik. Namun, masih belum diperoleh informasi mengenai proses yang terjadi di dalam sel Ito seandainya AFB₁ terperangkap di sel tersebut. Informasi ilmiah mengenai keberadaan sistem enzim sitokrom P-450 di sel Ito belum diperoleh. Bila kemampuan sel Ito untuk menangkap AFB₁ sudah mencapai batas kemampuan maksimum, maka ada AFB₁ yang tidak tertangkap dan masuk ke dalam sel-sel hati. AFB₁ yang sudah masuk ke dalam sel hati akan mengalami proses biotransformasi yang normal hingga terbentuknya AFB₁-8,9-epoksida. Kecepatan reaksi yang diakibatkan oleh radikal epoksida dapat lebih cepat dibandingkan kemampuan sel Ito untuk memperbaiki sel-sel hati. Dengan

demikian, akan terbentuk suatu proses kerusakan sel-sel hati baik berupa kanker hati maupun sirosis hati.



(a)



(b)

Gambar 9. Posisi protein yang berikatan dengan AFB₁ pada sel hati ayam (a) dan bebek (b). Lokasi protein (tanda panah) berada di daerah sinusoid, sedangkan hepatosit tidak terwarnai (h). (Pembesaran obyektif: 100).

AFB₁ telah diketahui berikatan dengan protein-protein plasma melalui ikatan kovalen (Chu, 1994). Jumlah AFB₁ yang berikatan dengan protein plasma akan meningkat lima kali lebih banyak dengan adanya mikrosoma (Yatim dan Sachan, 2001). Plasma darah mengandung 7-8% protein dan albumin merupakan protein plasma yang paling banyak (50-60%). Oleh karena itu, sudah dipastikan bahwa di dalam darah AFB₁ akan berikatan lebih dominan dengan albumin (Dirr dan Schabert, 1986). Dari hasil penelitian ini diduga PAB₁ memiliki peranan yang sama dengan albumin serum. Bila demikian, maka

peranan PAB₁ dan albumin sangat penting karena keduanya berperan sebagai pembawa AFB₁ di dalam darah. AFB₁ sebagai materi *xenobiotic* masuk ke organ hati melalui sirkulasi vaskular perifer (Wilson *et al.*, 1985). Setelah melalui proses epoksidasi, akan dihasilkan AFB₁-8,9-epoksida yang tetap berikatan dengan protein. Walaupun bentuk radikal epoksida ini akan segera berubah menjadi AFB₁ dihidrodiol, mereka akan tetap berikatan dengan protein. AFB_{2a} juga diketahui tetap berikatan dengan protein selama mengalami bioaktivasi (Sabbioni *et al.*, 1987). Dengan demikian dapat diduga bahwa PAB₁ memiliki peran yang penting dalam pemunculan efek toksik AFB₁.

Di sisi lain ada pemikiran bahwa pengikatan AFB₁ dengan albumin sebenarnya merupakan upaya untuk melindungi hati (Hsieh dan Wong, 1994). Keberadaan AFB₁ di dalam plasma protein dapat dipertahankan oleh karnitin (*carnitine*) sehingga AFB₁ bebas yang akan ditangkap dan dimetabolisir oleh sel-sel hati menjadi sedikit. Karnitin dapat meningkatkan kualitas ikatan kovalen antara AFB₁ dan protein-protein seluler sehingga memperkecil peluang untuk berikatan dengan DNA (Yatim dan Sachan, 2001).

Dari hasil yang diperoleh, muncul pemikiran bahwa proses biotransformasi AFB₁ di dalam sel hati dapat dimodifikasi seandainya reaksi PAB₁ dan APAB₁ dapat dibentuk lebih dahulu di dalam organ hati. Modifikasi proses tersebut bertujuan untuk mencegah ikatan AFB₁ dengan DNA dan protein dengan meminimalkan masuknya ke dalam sel hati, atau mempercepat proses biotransformasi AFB₁.

Kesimpulan

Dari ekstraksi hati bebek dan ayam telah diperoleh protein ekstrak. Kandungan protein dalam ekstrak kasar ini sebanyak 0,4310 mg/ml dari ekstrak hati bebek dan 0,3946 mg/ml dari ekstrak hati ayam. Setelah diisolasi menggunakan AFB₁ yang terikat di matriks, diperoleh larutan protein (PAB₁) dengan kandungan 0,2887 mg/ml pada hati bebek dan 0,2699 mg/ml. Terdapat satu jenis PAB₁ dari hati bebek dengan bobot molekul sekitar 66 kDa. Pada hati ayam terdapat dua PAB₁ dengan bobot molekul 66 kDa dan dibawah 29 kDa. PAB₁ terdapat di daerah sinusoid jaringan hati bebek dan ayam. Penyebaran PAB₁ lebih banyak di hati bebek dibandingkan sel-sel hati ayam. Penyebaran yang lebih banyak di hati bebek diduga merupakan salah satu faktor kerentanan ternak bebek terhadap keracunan aflatoxin. Untuk melengkapi hasil penelitian yang sudah dilakukan, ada beberapa hal yang perlu dipelajari yaitu keberadaan PAB₁ yang terdapat juga di plasma darah, lumen usus dan dinding usus, perbedaan populasi dan penyebaran PAB₁ di organ hati hewan lain dan

manusia karena mereka juga dapat mengalami aflatoksikosis dengan tingkat kerentanan yang berbeda, penggunaan pengebalan pasif dengan pemberian APAB₁ dapat diaplikasikan melalui mulut (*oral*), atau penyuntikan, melakukan *sequencing* asam-asam amino pada protein APAB₁, dan eksplorasi bahan lain yang memiliki mekanisme serupa APAB₁ sehingga dapat menggantikan peranan APAB₁ dalam pencegahan aflatoksikosis.

Daftar Pustaka

- Begue, J.M., G. Baffet, J.P. Campion, and A. Guillouzo. 1988. Potential response of primary cultures of human and rat hepatocytes to aflatoxin B1-induced cytotoxicity and protection by the hepatoprotective agent (+)-cyanidanol-3. *Biol Cell* 63(3):327-333.
- Bradford, M.M. 1976. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
- Chen, S.M., C.Y. Shi, H.P. Lee, and C.N. Ong. 1994. Aflatoxin B1-induced lipid peroxidation in rat liver. *Toxicol Appl Pharmacol* 127(1): 145-150.
- Chu, F.S. 1994. Development of Antibodies Against Aflatoxins. In: D.L. Eaton dan J.D. Groopman. eds. *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary and Agricultural Significance*. Academic Press New York, NY.
- Cole, K.E.; T.W. Jones; M.M. Lipsky; B.F. Trump and I.C. Hsu. 1989. Comparative effects of 3 carcinogens on human, rat and mouse hepatocytes. *Carcinogenesis* 10(1):139-143.
- Dirr, H.W., and J.C. Schabort . 1986. Aflatoxin B1 transport in rat blood plasma. Binding to albumin in vivo and in vitro and spectrofluorimetric studies into the nature of the interaction. *Biochim Biophys Acta* 881(3): 383-390.
- Eaton, D.L., and J.D. Groopman. 1994. *The Toxicology of Aflatoxin: Human Health, Veterinary and Agricultural Significant*. Academic Press. San Diego, California.
- Espada, Y., M. Domingo, J. Gomez, and M.A. Calvo. 1992. Pathological lesions following an experimental intoxication with aflatoxin b1 in broiler chickens. *Res Vet Sci* 53(3): 275-279.
- Estuningsih, S. 2001. Patogenesis mastitis subklinis pada sapi perah: pendekatan histopatologis mastitis subklinis akibat infeksi *Streptococcus agalactiae* hemagglutinin positif pada mencit. Institut Pertanian Bogor. Disertasi.

- Ewaskiewicz, J.I., T.M. Devlin, and J.J. Ch'ih. 1991. The in vivo disposition of aflatoxin B₁ in rat liver. *Biochem Biophys Res Commun.* 179(2): 1095-1100.
- Hao, X., R.R. Marquardt, L. Gang and A.A. Frolich. 1999. Isolation, purification and identification of intracellular protein targets of ochratoxin A: mitochondrial aldehyde dehydrogenase class 2 is a high-affinity ochratoxin A-binding protein. *J Sci Food Agric* 79: 2099-2104.
- Haskard, C.A., H.S. El-Nezami, P. Kankaanpää, S. Salminen, and J.T. Ahokas. 2001. Surface binding of aflatoxin B₁ by lactic acid bacteria. *App and Environ Microbiol* 67: 3086-3091.
- Hsieh, D.P.H., and J.J. Wong. 1994. Pharmacokinetics and Excretion of Aflatoxins. In: Eaton, DL, Groopman, JD. eds. *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary and Agricultural Significance.* Academic Press New York, NY.
- Iwaki, M, T. Kitagawa, Y. Akamatsu and K. Aibara. 1990. Cytotoxic effect of aflatoxin B₁ and its association with cellular components in chicken embryo primary cultured cells. *Biochimica-et-Biophysica-Acta-G, General Subjects* 1035(2):146-153.
- Jenning, C.S., R. Heck, F. Oesch, and P. Steinberg. 1994. Metabolism and cytotoxicity of aflatoxin b₁ in cultured rat hepatocytes and nonparenchymal cells: implications for tumorigenesis. *Toxicol Appl Pharmacol.* 129(1):86-94.
- Nunez, O., J.D. Hendricks, and J.R. Duimstra. 1991. Ultrastructure of hepatocellular neoplasms in aflatoxins B₁ (AFB₁), Initiated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicol Pathol* 19(1): 11-23.
- Noorden, S.V. 1986. Tissue Preparation and Immunostaining Techniques for Light Microscopy. In Polak, J.M. and S.V. Noorden. *Immunocytochemistry: Modern Methods and Application.* 2nd edit. Wright, Bristol. p. 26-53.
- Pribadi, E.S., and U. Patriana. 1996. Studi mengenai sifat akumulasi aflatoksin pada organ jeroan ayam petelur jantan yang mendapatkan suntikan kortikosteroid dan antibiotika. *Media Veteriner.* 1(1):43-53.
- Pritchard, D.J. and W.H. Butler. 1988. The ultrastructural features of aflatoxin b₁-induced lesions in the rat liver. *British J Experimental Pathol.* 69(6): 793-804.
- Sabbioni, G., P. Skipper, G. Buchi, and S.R. Tannenbaum. 1987. Isolation and characterization of major serum albumin adduct formed by aflatoxin B₁ in vivo in rats. *Carcinogenesis* 8: 819-824.
- Shen, H.M., C.Y. Shi, H.P. Lee, and CN Ong. 1994. Aflatoksin B₁-induced lipid peroxidation in rat liver. *Toxicol Appl Pharmacology* 127(1): 145-150.
- Suematsu M., and S. Aiso. 2001. Profesor Toshio Ito: a clairvoyant in pericyte biology. *Keio J Med* 50(2): 66-71.
- Tsuboi, S., K. Kawamura, M.L. Cruz, N. Iwamura, Y. Imanaka, T. Wada, N. Kachno, A. Sulaeman, M.S. Noer, P. Abadi, A. Rasad, H. Adenan, P. Sastroamidjojo, L.A. Salamat, T.C. Romero, A.L. Lingao, and E.O. Dominso. 1984. Aflatoxin B₁ and primary hepatocellular carcinoma in Japan, Indonesia and Philipines. (Detection aflatoxin B₁ in human serum and urine samples). *ICMR Annals* 4: 175-185.
- Wibawan, IWT, C. Lämmler, and F.H. Pasaribu. 1992. Role of hydrophobic surface proteins in mediating adherence of group B streptococci to epithelial cells. *J Gen Microbiol* 138: 1237-1242.
- Wilson, R., R. Ziprin, S. Ragsdale, and D. Busbee. 1985. Uptake and vascular transport of ingested aflatoxin. *Toxicol Lett.* 29(2-3): 169-76.
- Yatim, A.M., and D.S Sachan. 2001. Carnitine alters binding of aflatoxin to DNA and proteins in rat hepatocytes and cell-free systems. *J Nutr* 131: 1903-1908.