

## **Aktivitas Antioksidan Kasein Yogurt Susu Kambing pada Fungsi Hati Tikus Model Intoksikasi Dioksin**

### *Antioxidant Activity of Goat Milk Yogurt Casein on Dioxin Intoxicated Rat Liver Function*

Ani Setianingrum<sup>1\*</sup>, Gagak Donny Satria<sup>2</sup>, Masdiana Chendrakasih Padaga<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Kesmavet Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya

<sup>2</sup>Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

\*E-mail: ani.setia@ub.ac.id

#### **ABSTRAK**

Dioksin adalah cemaran lingkungan yang sifatnya persisten di alam, mengalami bioakumulasi melalui rantai pangan dan menyebabkan efek negatif bagi kesehatan. Stres oksidasi karena paparan dioksin berakibat terganggunya berbagai proses metabolisme dalam tubuh dan bersifat hepatotoksik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kasein yogurt susu kambing pada intoksikasi dioksin berdasarkan parameter fungsi hati. Penelitian ini menggunakan *tetrachlorodibenzo-p-dioxin* (TCDD) dalam minyak jagung dan kasein yogurt susu kambing. Tikus Wistar jantan sebanyak 24 ekor dibagi menjadi enam kelompok: (1) kontrol dengan tanpa perlakuan, (2) plasebo dengan pemberian kasein yogurt susu kambing 600 mg/kg BB/hari/ekor, (3) kelompok TCDD dengan pemberian TCDD 100 ng/kg BB/hari, (4) P1 diberikan TCDD 100 ng/kg BB/hari dan kasein yogurt 300 mg/kg BB, (5) P2 diberikan TCDD dosis 100 ng/kg BB/hari dan kasein yogurt 600 mg/kg BB, (6) P3 dengan pemberian TCDD 100 ng/kg BB/hari dan kasein yogurt dosis 900 mg/kg BB. Perlakuan selama 21 hari, sampel berupa serum darah untuk analisa kadar enzim transaminase (ALT, AST) dan enzim  $\gamma$ -glutamyl transferase (GGT). Berdasarkan kadar enzim transaminase, tidak terdapat perbedaan nyata pada kadar enzim ALT dan enzim AST. Suplementasi kasein yogurt susu kambing berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap penurunan kadar GGT dengan dosis optimal 600 mg/kg BB/hari.

**Kata kunci:** kasein yogurt, dioksin, ALT, AST, GGT

#### **ABSTRACT**

Dioxin is toxic contaminant which persistent in the environment. This compound bio-accumulate through food chain and generate adverse effect in human health. Oxidative stress due to dioxin exposure can interfere metabolism process and leads to the development of hepatotoxicity. The aim of this study was to asses the role of casein derived from goat milk yogurt in dioxin-intoxicated rat based on liver function parameters. Substances used were: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) diluted in corn oil and casein from goat milk yogurt. The study included 24 Wistar rats divided into 6 groups: (1) control group, (2) placebo group which given casein 600 mg/kg BW, (3) TCDD group given with TCDD 100 ng/kg BW, (4) group P1 given casein 300 mg/kg BW and TCDD, (5) group P2 given casein 600 mg/kg BW and TCDD, (6) group P3 given casein 900 mg/kg BW and TCDD. The respective dose were given orally for 21 days. Blood serum was collected for transaminases (ALT, AST) and  $\gamma$ -glutamyl transferase (GGT) analysis. Based on serum transaminases activity, there were no significant change on AST and ALT level. Casein yogurt supplementation has significant effect on serum GGT level ( $p < 0,05$ ) and optimum dose was 600 mg/kg BW/day

**Keywords:** Casein yogurt, dioxin, ALT, AST, GGT

## PENDAHULUAN

*Persistent organic pollutants* (POPs) adalah cemaran lingkungan berupa substansi kimia yang sulit terdegradasi, polutan ini mengalami bioakumulasi dan biomagnifikasi melalui jaringan pangan dan dapat menimbulkan efek negatif bagi kesehatan manusia (Van den Berg *et al.*, 2006). Dioksin merupakan salah satu substansi POPs yang toksik karena sangat stabil terhadap proses degradasi oleh lingkungan maupun oleh proses biologis (Schechter *et al.*, 2005). Dioksin terbentuk dari proses pembakaran bahan kimia yang mengandung klorin, pembakaran sampah, industri logam, asap kendaraan bermotor, proses bleaching kertas, sintesa herbisida, dan pestisida. *Congener* dioksin yang paling toksik adalah 2,3,7,8-*Tetrachlorodibenzo-p-dioxin* (TCDD). Intoksikasi TCDD pada mamalia dapat menyebabkan gangguan sistem saraf, kerusakan kulit, gangguan pertumbuhan dan reproduksi, menurunkan sistem imun tubuh, gangguan sistem endokrin, bersifat karsinogen, dan menyebabkan gangguan metabolisme (Hsu, 2007; Macaulay, 2008; Turkez *et al.*, 2012).

Sumber kontaminasi TCDD pada bahan pangan asal hewan berasal dari lingkungan dan pakan ternak yang tercemar. Diperkirakan bahwa lebih dari 90% dioksin yang dikonsumsi oleh manusia berasal dari pangan asal hewan. Telah banyak dilaporkan adanya kontaminasi TCDD pada susu, daging sapi dan daging babi (Dooley, 2009; Pemberthy *et al.*, 2016), dan telur konsumsi (Hoang *et al.*, 2014). Di Indonesia, deteksi residu dioksin pada sampel daging menunjukkan adanya residu TCDD pada yang jauh melebihi batas maksimum residu yang ditetapkan oleh WHO yaitu 3 pg/g (Indraningsih dan Sani, 2014; Sani dan Indraningsih, 2015).

Efek toksik yang disebabkan oleh TCDD diperantarai oleh *Aryl hydrocarbon*

*receptor* (AhR), dan stress oksidasi mempunyai peran penting dalam mekanisme intoksikasi oleh TCDD (Turkez *et al.*, 2012; Becker *et al.*, 2015). Paparan TCDD menyebabkan perubahan pada kadar enzim penanda fungsi hati seperti *alanine aminotransferase* (ALT), *aspartate aminotransferase* (AST), enzim  $\gamma$ -*glutamyltransferase* (GGT), serta total bilirubin (Hu *et al.*, 2003; Christensen *et al.*, 2013). Toksisitas TCDD pada hewan coba diantaranya adalah kerusakan hati, secara umum terjadi hepatomegali karena hiperplasia dan hipertrofi pada sel parenkim. Perubahan morfologis yang diamati pada hati adalah spesies spesifik dan dapat disertai oleh penurunan fungsi hati dengan peningkatan serum ALT, AST, dan penurunan aktivitas enzim antioksidan (Sakin *et al.*, 2011; Turkez *et al.*, 2012).

Antioksidan alami yang berasal dari makanan telah banyak diteliti dan dipercaya mempunyai fungsi biologis yang dapat mencegah efek negatif yang disebabkan oleh radikal bebas dan mempunyai efek protektif yang dapat memperlambat perkembangan berbagai penyakit kronis (Awemu *et al.*, 2009). Susu sebagai bahan makanan yang kaya akan protein mengandung vitamin dan enzim yang merupakan antioksidan. Pihlanto (2006) menyatakan bahwa peptida yang berasal dari hasil digesti protein susu mempunyai aktivitas antioksidan. Kasein merupakan komponen utama dalam protein susu yang mencapai 80% dari total fraksi protein susu. Molekul peptida penyusun kasein tidak hanya nutrien, terdapat peptida dengan berat molekul rendah yang mempunyai aktivitas biologis (Lamothe *et al.*, 2007). Molekul peptida yang bersifat bioaktif akan dilepas melalui proses digesti susu yang terjadi dalam saluran pencernaan, melalui proses fermentasi susu oleh enzim proteolitik oleh bakteri asam laktat (BAL),

atau melalui proses hidrolisis dengan enzim proteolitik (Mohanty *et al.*, 2016).

Yogurt yang dibuat dari susu kambing belum banyak dikonsumsi oleh masyarakat dan penelitian terkait manfaatnya bagi kesehatan mulai banyak dilakukan. Penelitian sebelumnya menunjukkan aktivitas antioksidan dan manfaat dari kasein yogurt susu kambing sebagai antihipertensi (Padaga *et al.*, 2015). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek protektif kasein yogurt susu kambing pada intoksikasi TCDD berdasarkan kadar serum enzim transaminase (ALT, AST) dan enzim  $\gamma$ -glutamyl transferase (GGT).

## MATERI DAN METODE

### Bahan Kimia

Starter yogurt dengan 3 strain BAL: *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* dan *L. acidophilus* (Yógourmet, Lyo-SAN INC: 500 Aeroparc, C.P. 589, and Lachute, QC, Canada, J8H, 464). Bahan kimia dioksin menggunakan 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) dengan kemurnian >99% (Supelco Analytical Bellefonte, PA, Cat No: 48599). Minyak jagung digunakan sebagai pelarut TCDD dan air destilasi sebagai pelarut kasein yogurt. Larutan stok TCDD dibuat dengan melarutkan 10  $\mu$ g/mL TCDD dalam 100 mL minyak jagung.

### Pembuatan Yogurt dan Persiapan Kasein Yogurt Susu Kambing

Susu kambing segar dibeli dari peternakan di kabupaten Malang. Yogurt susu kambing dibuat berdasarkan metode dalam Padaga *et al.* (2015). Kasein dipisahkan dari yogurt dengan sentrifugasi dingin pada 50<sup>0</sup>C kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit, dan kemudian disaring menggunakan kertas Whatman pada kondisi dingin. Kasein kemudian

disimpan dalam freezer -20<sup>0</sup>C sampai digunakan.

### Desain Eksperimental

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi etik Penelitian Universitas Brawijaya Hewan coba yang digunakan adalah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan umur 8-12 minggu dengan berat 120-150 gram. Pemeliharaan tikus dalam kondisi normal (suhu ruangan 24  $\pm$  2<sup>0</sup>C dan siklus 12 jam siang/malam). Aklimatisasi dilakukan selama 14 hari dengan pemberian pakan dan air minum *ad libitum*.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan 24 ekor tikus dibagi dalam 6 kelompok secara acak. Kelompok Kontrol: tanpa perlakuan dengan pemberian makan dan minum normal. Kelompok TCDD: diberi TCDD 100 ng/kg BB/hari. Kelompok Plasebo: dengan pemberian kasein yogurt susu kambing dengan 600 mg/kg BB/hari/ekor. Kelompok P1: diberikan TCDD 100 ng/kg BB dan kasein yogurt 300 mg/kg BB. Kelompok P2: diberikan TCDD 100 ng/kg BB/hari dan kasein yogurt 600 mg/kg BB. Kelompok P3: diberikan TCDD 100 ng/kg BB/hari dan kasein yogurt 900 mg/kg BB. Pemberian perlakuan menggunakan sonde lambung sebanyak 1 mL larutan TCDD dan 1 mL larutan kasein dengan jarak 4 jam antar perlakuan. Lama perlakuan adalah 21 hari dan kemudian dilakukan pengambilan sampel darah untuk analisa biokimia.

### Analisa Biokimia dan Statistika

Sampel darah yang didapat didiamkan selama 60 menit sampai terbentuk *clot* dan kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada 5000 rpm untuk mendapatkan serum. Analisa fungsi hati yaitu kadar enzim ALT, AST dan GGT menggunakan Hitachi 902 automatic analyzer (Hitachi Co. Ltd, Tokyo, Japan).

Data yang diperoleh disajikan dalam Mean  $\pm$  SD. Analisa secara statistika menggunakan *one-way Analysis of Variance* (ANOVA) dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* Tukey HSD dengan tingkat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengaruh Kasein Yogurt Susu Kambing pada Kadar Enzim Transaminase

Hasil pengujian serum menunjukkan kadar enzim transaminase pada semua kelompok tikus melebihi nilai normal (**Tabel 1**). Terdapat perbedaan nyata pada kadar AST kelompok P1 dan P2 dibandingkan kontrol ( $p < 0,05$ ).

Pemberian TCDD dosis 100 ng/kg BB pada tikus Wistar tidak menunjukkan adanya perubahan yang nyata pada kadar AST maupun ALT serum. Perbedaan tidak nyata dalam kadar enzim

transaminase pada penelitian ini disebabkan karena pada tikus enzim ALT mempunyai aktivitas intrahepatik yang rendah dan *half life* yang pendek di sirkulasi dibandingkan pada anjing, monyet, dan manusia (O'Brien *et al.*, 2002). Toksisitas oleh bahan *xenobiotik* yang memengaruhi sistem metabolisme *cytochrome* P450 seperti TCDD akan menyebabkan kerusakan bagian sentrilobular pada hati (Panteghini *et al.*, 2006). Enzim AST terdistribusi homogen pada acinus hati dan ALT sebagian besar pada periportal hati. Menurut O'Brien *et al.* (2002) spesifisitas jaringan merupakan hal yang perlu dipertimbangan pada analisis enzim transaminase sebagai penanda fungsi hati. Enzim ALT dan AST terdapat juga pada jaringan otot sehingga kerusakan pada jaringan otot dapat menyebabkan peningkatan yang memengaruhi hasil pengujian.

**Tabel 1.** Kadar AST dan ALT serum tikus intoksikasi dioksin

Kelompok	kadar AST serum (mean $\pm$ SD) U/l	kadar ALT serum (mean $\pm$ SD) U/l
Kontrol	219,50 $\pm$ 15,02 <sup>b</sup>	181,00 $\pm$ 33,21
TCDD	175,00 $\pm$ 15,25 <sup>ab</sup>	158,00 $\pm$ 18,97
Plasebo	198,00 $\pm$ 30,80 <sup>ab</sup>	177,25 $\pm$ 21,53
P1	166,75 $\pm$ 15,32 <sup>a</sup>	126,50 $\pm$ 35,91
P2	170,75 $\pm$ 33,02 <sup>ab</sup>	161,25 $\pm$ 19,72
P3	158,25 $\pm$ 23,89 <sup>a</sup>	130,75 $\pm$ 48,86

**Keterangan:** Kontrol (normal), TCDD (induksi TCDD), Plasebo (kasein 600 mg), P1 (TCDD + kasein 300 mg), P2 (TCDD + kasein 600 mg), P3 (TCDD + kasein 900 mg).

\*Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata pada  $p < 0,05$

### Pengaruh kasein yogurt susu kambing pada kadar enzim GGT

Hasil uji statistika menunjukkan terdapat perbedaan nyata pada kadar GGT kelompok perlakuan P2 dibandingkan dengan kelompok TCDD ( $p < 0,05$ ) dengan persentase penurunan kadar GGT

serum sebanyak 74,194%. Pada penelitian ini paparan TCDD secara umum meningkatkan kadar GGT serum meskipun tidak signifikan, terdapat peningkatan GGT serum dibanding kelompok kontrol (**Tabel 2**).

**Tabel 2** Kadar GGT serum tikus intoksikasi dioksin

Kelompok	Kadar GammaGT (mean + SD) U/L	Peningkatan dibandingkan Kontrol (%)	Penurunan dibandingkan kelompok TCDD (%)
Kontrol	0,825 + 0,861 <sup>ab</sup>		
TCDD	2.325 + 0.573 <sup>a</sup>	181.82	
Plasebo	1.825 + 0.727 <sup>ab</sup>	121.21	21.505
P1	1.05 + 0.655 <sup>ab</sup>	27.27	54.839
P2	0.60 + 0.454 <sup>b</sup>		74.194
P3	1.05 + 0.741 <sup>ab</sup>	27.27	54.839

**Keterangan:** Kontrol (normal), TCDD (induksi TCDD), Plasebo (kasein 600 mg), P1 (TCDD + kasein 300 mg), P2 (TCDD + kasein 600 mg), P3 (TCDD + kasein 900 mg).

\*Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata pada P<0,05.

Peningkatan GGT serum merupakan indikasi awal dan sensitif untuk menilai terjadinya stres oksidatif. paparan TCDD dapat menyebabkan stres oksidasi dengan meningkatkan ROS dan menurunkan aktivitas enzim antioksidan seperti *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GSH-PX), glutathion, dan katalase pada jaringan hati tikus (Alsharif dan Hassoun, 2004; Sakin et al., 2011). Penelitian oleh Hu *et al.* (2003) pada kelompok pekerja limbah dengan paparan TCDD yang tinggi menunjukkan adanya abnormalitas pada enzim hepatik antara lain AST, ALT, GGT, dan peningkatan kadar bilirubin.

Kondisi yang meningkatkan GGT serum seperti penyakit gangguan hati, konsumsi alkohol dan bahan kimia yang bersifat toksik dapat meningkatkan produksi radikal bebas dan menurunkan enzim antioksidan glutathion yang berperan dalam menangkal stres oksidatif. *Gamma glutamyl transferase* (GGT) berperan dalam mencegah stres oksidatif dengan mengubah glutathion ekstraseluler dan memungkinkan komponen asam amino dapat digunakan oleh sel untuk sintesa glutathion intraseluler (Whitfield, 2001).

Pemberian kasein yogurt susu kambing pada penelitian ini terbukti mencegah peningkatan kadar GGT serum.

Dosis yang paling efektif menurunkan kadar GGT pada paparan TCDD adalah 600 mg/kg BB/hari. Menurut Pihlanto (2006), kasein mempunyai aktivitas antioksidan antara lain sebagai *radical scavenger* dan *cation chelator* yang dapat menghambat oksidasi *lipid*. Berdasarkan kadar GGT serum, pemberian kasein yogurt susu kambing mampu mencegah intoksikasi dioksin (*2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin*) pada tikus Wistar dan pemberian kasein yogurt susu kambing mempunyai efek protektif terhadap efek negatif dari TCDD.

## KESIMPULAN

Suplementasi kasein yogurt susu kambing berpengaruh terhadap penurunan kadar GGT pada tikus Wistar jantan terpapar *2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin* (TCDD). Dosis optimal pemberian kasein yogurt susu kambing adalah 600 mg/kg BB/hari. Pemberian kasein yogurt susu kambing tidak berpengaruh signifikan pada kadar enzim transaminase (AST dan ALT) pada tikus intoksikasi dioksin. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai kandungan peptida bioaktif pada kasein yogurt susu kambing dan penggunaan peptida bioaktif asal susu kambing sebagai alternatif pencegahan



penyakit metabolik karena paparan bahan kimia berbahaya seperti dioksin.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alsharif, Naser Z. and Ezdihar A. Hassoun. 2004. "Protective Effects of Vitamin A and Vitamin E Succinate against 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin (TCDD)-Induced Body Wasting, Hepatomegaly, Thymic Atrophy, Production of Reactive Oxygen Species and DNA Damage in C57BL / 6J Mice." *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 95:131–38.
- Awemu, Eveline M. Ibeagha, J. R. Liu, and Xin Zhao. 2009. "Bioactive Components in Yogurt Products." Pp. 235–50 in *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. Wiley-Blackwell.
- Van den Berg, Martin et al. 2006. "The 2005 World Health Organization Reevaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-Like Compounds." *Toxicological Sciences* 93(2):223–41.
- Christensen, Krista L. Yorita, Caroline K. Carrico, Arun J. Sanyal, and Chris Gennings. 2013. "Multiple Classes of Environmental Chemicals Are Associated with Liver Disease: NHANES 2003-2004." *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 216(6):703–9.
- Dooley, Erin E. 2009. "The Beat: Dioxin Found in Irish Meat." *Environmental Health Perspectives*, A18.
- Hoang, Thu T., Wim A. Traag, AlberTinka J. Murk, and Ron L. A. P. Hoogenboom. 2014. "Levels of Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins, Dibenzofurans (PCDD/Fs) and Dioxin-like PCBs in Free Range Eggs from Vietnam, Including Potential Health Risks." *Chemosphere* 114:268–74.
- Hsu, Erin Lea Kastan. 2007. "Novel Dioxin-Regulated Genes and Their Associated Biological Effects." University Of California.
- Hu, Suh-woan, Guo-ping Changchien, and Chang-chuan Chan. 2003. "Association Between Dioxins / Furans Exposures and Incinerator Workers' Hepatic Function and Blood Lipids." *Journal of Occupational and Environmental Medicine* 45(6):601–8.
- Indraningsih and Y. Sani. 2014. "Deteksi Dioksin Trichloro Dibenzo-p-Dioxins Dan Trichloro Dibenzofurans Pada Daging Sapi Dengan Gas Chromatography Tandem Mass Spectrometry." *Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner* 19(4):302–14.
- Lamothe, S., G. Robitaille, D. St-Gelais, and M. Britten. 2007. "Short Communication: Extraction of Beta-Casein from Goat Milk." *Journal of Dairy Science* 90(12):5380–82.
- Macaulay, Elizabeth Jane. 2008. "TCDD DISRUPTS GENE EXPRESSION IN THE DEVELOPING MOUSE KIDNEY." University of Toronto.
- Mohanty, D. P., S. Mohapatra, S. Misra, and P. .. Sahu. 2016. "Milk Derived Bioactive Peptides and Their Impact on Human Health – A Review." *Saudi Journal of Biological Sciences* 23(5):577–83.
- O'Brien, P. J., Mark R. Slaughter, S. R. Polley, and K. Kramer. 2002. "Advantages of Glutamate Dehydrogenase as a Blood Biomarker of Acute Hepatic Injury in Rats." *Laboratory Animals* 36(3):313–21.
- Padaga, C., Aulanni'am Aulanni'am, Hidayat Sujuti, and Widodo. 2015. "Blood Pressure Lowering Effect and Antioxidative Activity of Casein Derived from Goat Milk Yogurt in DOCA-Salt Hypertensive Rats." *International Journal of PharmTech Research* 8(6):322–30.
- Panteghini, Mauro, Renze Bais, and Wouter W. van Solinge. 2006. "Enzymes." Pp. 604–7 in *TIETZ textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, edited by C. A. Burtis and E. R. Ashwood. Elsevier Saunders.
- Pemberthy, D. et al. 2016. "Science of the Total Environment Polychlorinated

- Dibenzo- p -Dioxins , Dibenzofurans and Dioxin-like PCBs in Commercialized Food Products from Colombia.” *Science of the Total Environment*, 568:1185–91.
- Pihlanto, Anne. 2006. “Antioxidative Peptides Derived from Milk Proteins.” *International Dairy Journal* 16:1306–14.
- Sakin, Fatih, Funda Gulcu Bulmus, Kadir Servi, and Lacramioara Popa. 2011. “Protective Effect of Lycopene on Oxidative Stress Induced by Different Doses of 2,3,7,8-Teterechlorodibenzo-p-Dioxin in Brain, Liver, Kidney, and Heart Tissue of Rats.” *Farmacia* 59:462–70.
- Sani, Y. and Indraningsih. 2015. “Pathological Changes of Suspected Tetrachloro Dibenzo- p - Dioxins / Tetrachloro Dibenzofurans Toxication in Beef Cattle.” *Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner* 20(3):214–23.
- Schechter, Arnold, Linda Birnbaum, John J. Ryan, and John D. Constable. 2005. “Dioxins : An Overview.” *Environmental Reasearch* 1:1–10.
- Turkez, Hasan, Fatime Geyikoglu, and Mokhtar Ibrahim Yousef. 2012. “Ameliorative Effect of Histological Changes , Oxidative Stress , and DNA Damage in Rat Liver.” *Toxicology and Industrial Health* 28(8):687–96.
- Whitfield, J. B. 2001. “Gamma Glutamyl Transferase.” *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 38(4):263–355.