

Aluminosilikat Berpotensi Menekan Gangguan Reproduksi Mikotoksin *Zearalenon* Berdasarkan Pengamatan Jumlah Folikel dan Ekspresi *Caspase-9* Ovarium

(ALUMINOSILICATES HAS THE POTENTIAL TO DECREASE REPRODUCTIVE DISORDER CAUSED ZEARALENONE MYCOTOXIN BASED ON OVARIAN OBSERVATION ON THE FOLLICLES AMOUNT AND CASPASE-9 EXPRESSION)

Muhammad Thohawi Elziyad Purnama¹, Imam Mustofa²,
Tri Wahyu Suprayogi², Abdul Samik²,
Ragil Angga Prastiya², Amung Logam Saputro³

¹Laboratorium Anatomi, Departemen Anatomi Veteriner,

²Laboratorium Reproduksi, Departemen Reproduksi Veteriner,

³Laboratorium Pakan Ternak, Departemen Peternakan,

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Kampus-C Unair Jln. Mulyorejo, Surabaya,

Jawa Timur, Indonesia, 60115

Telp. (031) 5993016, Fax. (031) 5993015

Email : thohawi@fkh.unair.ac.id

ABSTRAK

Zearalenon merupakan senyawa *resorcylic acid lactone* yang diproduksi oleh jamur *Fusarium graminearum* dan dapat mengakibatkan gangguan reproduksi pada ternak dengan membentuk ikatan pada reseptor estrogen. Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi aluminosilikat terhadap mencit yang telah dipapar *zearalenon* pada aspek jumlah folikel dan ekspresi caspase-9 organ ovarium. Penelitian ini menggunakan 20 ekor mencit yang dibagi menjadi lima kelompok perlakuan dengan masing-masing empat ulangan, yakni K+ tanpa dipapar *zearalenon* dan aluminosilikat; K- dosis *zearalenon* 0,1 mg/ekor/hari; P1 dosis *zearalenon* 0,1 mg/ekor/hari dan aluminosilikat 0,5 mg/ekor/hari; P2 dosis *zearalenon* 0,1 mg/ekor/hari dan aluminosilikat 1 mg/ekor/hari; P3 dosis *zearalenon* 0,1 mg/ekor/hari dan aluminosilikat 2 mg/ekor/hari dengan sonde lambung selama sepuluh hari. Data hasil skoring dan perhitungan dianalisis dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah folikel primer, sekunder, tersier dan *de Graaf* pada P3 terjadi peningkatan yang signifikan. Ekspresi caspase-9 ovarium menunjukkan penurunan pada semua perlakuan aluminosilikat. Simpulan penelitian ini adalah mencit yang dipapar *zearalenon* dan kemudian diberi aluminosilikat mengalami peningkatan jumlah folikel dan penurunan ekspresi caspase-9 pada organ ovarium.

Kata-kata kunci: aluminosilikat; *zearalenon*; jumlah folikel; *caspase-9*; ovarium

ABSTRACT

Zearalenone is a *resorcylic acid lactone* produced by fungal *Fusarium graminearum* in contaminated edible grains and can cause reproduction disorder in animals by binding to estrogen receptors on target cells. The aim of this study was to assess the potential use of aluminosilicates as mycotoxin binders to eliminate the adverse effect of *zearalenone* by examining the number of follicles and caspase-9 expression in the ovary of mice. The study adopted a completely randomized simple design using 20 mice which were randomly divided into five groups each of which consisted of four mice. Five treatment groups consisted of K+ (without *zearalenone* and aluminosilicates); K- (treated with *zearalenone* 0.1 mg/mice/day); P1 (treated with *zearalenone* 0.1 mg/mice/day and aluminosilicates 0.5 mg/mice/day); P2 (treated with *zearalenone* 0.1 mg/mice/day and aluminosilicates 1 mg/mice/day); and P3 were treated with *zearalenone* 0.1 mg/mice/day and aluminosilicates 2 mg/mice/day) with gastric tube daily for 10 days. The data obtained from this study were analyzed by analysis of variance and proceeded with Duncan test. The result showed that the primary follicles, secondary follicles, tertiary follicles and *de Graaf* follicles increased significantly on P3 treatment group. Caspase-9 expressions decreased significantly in all of aluminosilicates groups as compared to positive control. The treatment of mice with *zearalenone* and aluminosilicates increases the number of follicles and decreased caspase-9 expression in the ovary of mice.

Key words: aluminosilicates; *zearalenone*; follicles amount; *caspase-9*; ovary

PENDAHULUAN

Bahan pakan ternak terindikasi mengandung cemaran mikotoksin yang diproduksi oleh jamur seperti *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps* dan *Alternaria*. Berdasarkan uji *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), sekitar 85,7% pakan ternak terkontaminasi *zearalenon*. *Zearalenon* telah ditemukan sebagai mikotoksin agen penyebab menurunnya produksi ternak sapi di Indonesia (Casteel dan Rottinghouse, 2000; Nuryono *et al.*, 2003).

Zearalenon diproduksi oleh jamur *Fusarium graminearum* yang umumnya terdapat pada jagung, *sereal*, *oat*, dan jerami. Jamur *F. graminearum* bersifat seperti *phytoestrogen* yang dapat meningkatkan kadar hormon estrogen sehingga memicu terjadinya gangguan siklus birahi (Nikov *et al.*, 2000).

Zearalenon dapat menginduksi terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan gangguan homeostasis intraseluler. Mikotoksin *zearalenon* juga dapat memicu proliferasi sel yang tidak terkendali sehingga menginisiasi proses apoptosis jalur intrinsik (Gellerich *et al.*, 2010). Jalur intrinsik melibatkan fungsi mitokondria yang dipengaruhi stres oksidatif dengan melepaskan protein dan mengaktifkan *caspase* ke dalam *sitosol*. Stres oksidatif membuat *sitokrom-c* dirilis keluar dari mitokondria dan mengikat *Apoptotic Protease Activating Factor-1* (Apaf-1) dan *procaspase-9* untuk mengaktifkan *caspase-9* (Kumar *et al.*, 2005).

Aluminosilikat ($AlSi_3O_8^-$) merupakan mineral murni yang banyak diteliti sebagai bahan *chemisorption*. Aluminosilikat digunakan untuk mengatasi beberapa kasus yang disebabkan oleh mikotoksin jenis aflatoksin dan okratoksin. Penggunaan aluminosilikat didasarkan fungsi adsorpsi yakni tingginya proses kelarutan senyawa toksik hingga terakumulasi pada permukaan aluminosilikat sebagai adsorben. Aluminosilikat tidak memiliki fungsi absorpsi yang baik karena bukan merupakan zat cair (Schall *et al.*, 2000; Huwig *et al.*, 2001).

Penambahan aluminosilikat diharapkan dapat mengurangi efek mikotoksin *zearalenon*. Aluminosilikat memiliki material ion aluminium (Al^{3+}) yang memiliki afinitas sangat tinggi sebagai adsorben utama. Aluminosilikat dapat meriliskan karbon aktif yang terkandung dalam mikotoksin sehingga membuat daya toksisitas berkurang. Tingginya afinitas ion

aluminium dapat mengikat rantai aktif α -Aflatoksin dan menghilangkan dampak mikotoksin pada sistem pencernaan (Diaz *et al.*, 2004; Jouany, 2007). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi aluminosilikat terhadap jumlah folikel dan ekspresi *caspase-9* ovarium mencit yang dipapar *zearalenon*.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan adalah *zearalenon* (*Zearalenon*[®], Tocris Bioscience, USA) sintesis dari jamur *F. graminearum* dan aluminosilikat. Mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c betina sebanyak 20 ekor digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok perlakuan dengan empat ulangan pada masing-masing perlakuan. Mencit tersebut disuntik hormon *Pregnant Mare Serum Gonadotropine* (PMSG) dosis 5 IU secara subkutan selanjutnya *Human Chorionic Gonadotropine* (hCG) dosis 5 IU selang 48 jam kemudian untuk proses superovulasi dan sinkronisasi (Luo *et al.*, 2011).

Dasar pemberian dosis *zearalenon* mengacu pada laporan penelitian Gajecka (2012) dan konversi dosis berdasarkan tabel Laurence dan Bacharach (1993). Perlakuan *zearalenon* pada mencit dilakukan secara per oral dengan sonde lambung selama 10 hari. Rincian perlakuan dosis, yaitu: K+: tidak dipapar *zearalenon* dan aluminosilikat; K-: dosis *zearalenon* 0,1 mg/ekor/hari; P1: dosis *zearalenon* 0,1 mg/ekor/hari dan aluminosilikat 0,5 mg/ekor/hari; P2: dosis *zearalenon* 0,1 mg/ekor/hari dan aluminosilikat 1 mg/ekor/hari; dan P3: dosis *zearalenon* 0,1 mg/ekor/hari dan aluminosilikat 2 mg/ekor/hari.

Pada hari ke-11, mencit dikorbankan nyawanya dengan cara dieutanasia secara inhalasi dengan menggunakan *chloroform*. Setelah itu, mencit difiksasi dan dibedah untuk mendapatkan organ ovarium. Selanjutnya dilakukan pembuatan sediaan histopatologi dan pewarnaan imunohistokimia terhadap organ ovarium. Semua penelitian ini telah mendapat kelayakan dari Komisi Etik Penelitian No 309-KE, FKH Unair.

Pengamatan Folikel Ovarium

Pengamatan terhadap jumlah folikel dilakukan pada bagian ovarium kiri dan kanan secara mikroskopis dengan metode kuantitatif. Sediaan histologi irisan ovarium diamati masing-masing lima kali dalam satu lapang pandang. Pengamatan dilakukan menggunakan

mikroskop cahaya (Olympus® CX-41 Japan) perbesaran 100 kali. Hasil yang didapat dari setiap lapang pandang dibuat rataannya yang kemudian dianalisis secara statistika.

Pengamatan terhadap ekspresi *caspase-9* dilakukan secara mikroskopis dengan metode *skoring* menurut Sinuhaji (2013), yakni intensitas kecoklatan lapang pandang 0% dengan skor 0 berarti normal, intensitas kecoklatan lapang pandang 0-25% dengan skor 1 berarti rendah, intensitas kecoklatan lapang pandang 25-50% dengan skor 2 berarti sedang, dan intensitas kecoklatan lapang pandang >50% dengan skor 3 berarti tinggi. Skoring dilakukan sebanyak lima kali lapang pandang dengan perbesaran 400 kali. Nilai rataan yang didapat dari kelima lapang pandang kemudian dianalisis secara statistika.

Analisis Statistika

Rataan jumlah folikel dan skoring *caspase-9* dianggap sebagai data yang didapat dan diuji normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Jika data terdistribusi normal, dilakukan analisis parametrik menggunakan sidik ragam atau *Analysis of variance* satu arah dan bila berbeda nyata ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji Duncan. Jika data tidak terdistribusi normal, dilakukan analisis non parametrik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan bila berbeda nyata ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Seluruh proses analisis dikerjakan dengan program SPSS v20 (Kusriningrum, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil berupa rataan jumlah folikel dan ekspresi *caspase-9* disajikan pada Tabel 1. Pada Tabel 1 tersebut jumlah folikel primer mengalami peningkatan signifikan pada P3 jika dibandingkan dengan K-, P1, dan P2. Jumlah folikel sekunder mengalami peningkatan signifikan pada P3 jika dibandingkan dengan K-, P1, dan P2. Jumlah folikel tersier mengalami peningkatan tidak signifikan pada P3 jika dibandingkan dengan K-, P1, dan P2. Jumlah folikel *de Graaf* mengalami peningkatan signifikan pada P3 jika dibandingkan dengan K-, P1, dan P2. Pemberian aluminosilikat pada P3 menunjukkan bahwa dosis 2 mg/ekor/hari sangat efektif untuk meningkatkan jumlah folikel mencit yang telah dipapar *zearalenon*.

Ekspresi *caspase-9* mengalami penurunan yang signifikan pada P1, P2 dan P3 jika dibandingkan dengan K-. Pemberian aluminosilikat pada P1, P2, dan P3 menunjukkan bahwa dosis 0,5 mg/ekor/hari merupakan dosis minimal untuk menurunkan ekspresi *caspase-9* mencit yang telah dipapar *zearalenon*. Gambaran histopatologi jumlah folikel dan ekspresi *caspase-9* disajikan pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Zearalenon dimetabolisme di hati oleh enzim hidroksisteroid dehidrogenase menjadi dua isomer metabolit, yakni α -Zearalenol dan β -Zearalenol. Kedua isomer tersebut memiliki struktur *resorcyclic acid lactone* yang dapat

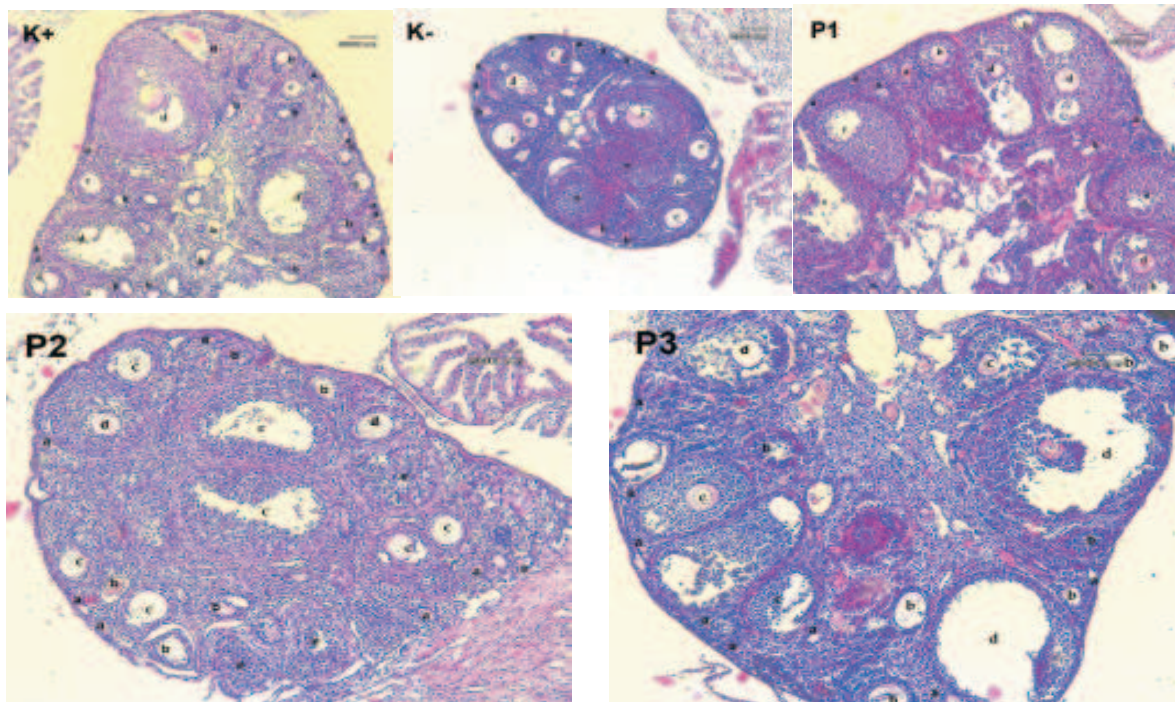
Tabel 1. Rataan jumlah folikel pada ovarium kanan dan kiri serta *caspase-9* mencit yang mendapat perlakuan *zearalenon* dan aluminosilikat

P	Jumlah Folikel (X ± SD)				Casp-9(X ± SD)
	F _p	F _s	F _T	F _{dG}	
K+	11,4 ^a ±1,26	10,2 ^a ±0,26	7,5 ^a ±0,56	8,7 ^a ±0,61	0,3 ^a ±0,60
K-	4,4 ^c ±0,11	3,6 ^d ±1,14	4,5 ^b ±1,19	1,4 ^d ±0,59	8,3 ^c ±0,90
P1	3,4 ^d ±0,13	4,3 ^c ±0,12	4,3 ^b ±0,17	3,7 ^c ±0,16	3,6 ^b ±0,41
P2	4,3 ^c ±0,27	5,2 ^c ±0,57	5,1 ^b ±0,24	3,9 ^c ±0,23	3,3 ^b ±0,34
P3	6,8 ^b ±0,36	7,7 ^b ±0,38	6,6 ^{ab} ±0,35	6,8 ^b ±1,06	2,8 ^b ±0,28

Keterangan : F_p. Folikel primer; F_s. Folikel sekunder; F_T. Folikel tersier; F_{dG}. Folikel *de Graaf*; Casp9. Caspase-9.

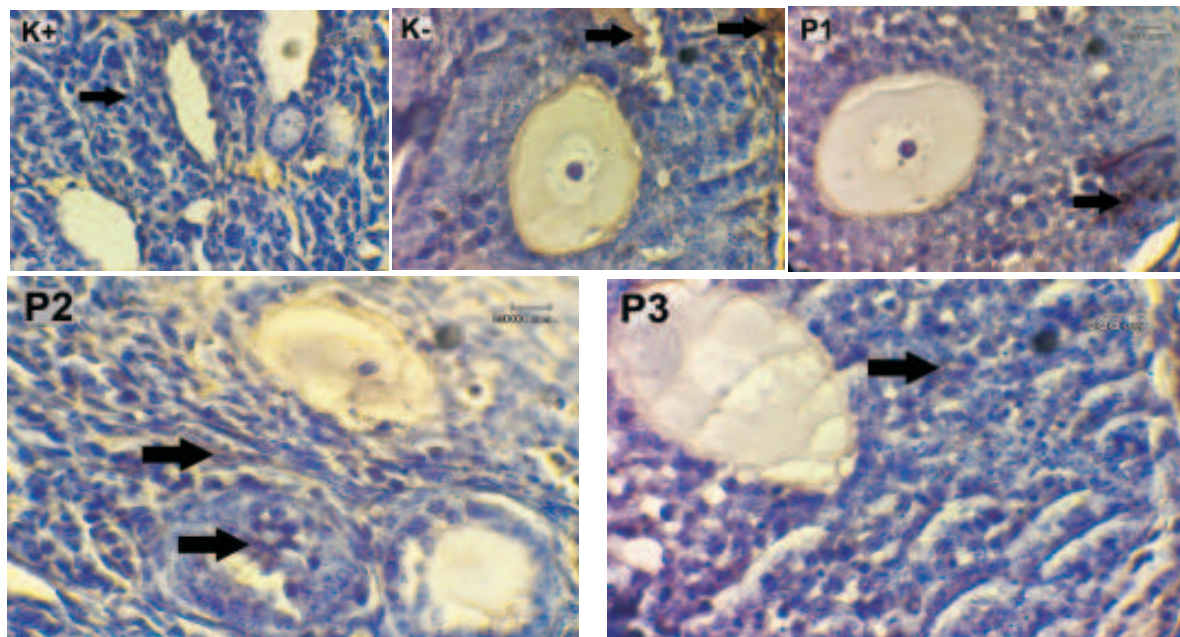
K+ : tidak dipapar *zearalenon* dan aluminosilikat; K- : dosis *zearalenon* 0,1 mg/ekor/hari; P1 : dosis *zearalenon* 0,1 mg/ekor/hari dan aluminosilikat 0,5 mg/ekor/hari; P2 : dosis *zearalenon* 0,1mg/ekor/hari dan aluminosilikat 1 mg/ekor/hari; dan P3 : dosis *zearalenon* 0,1mg/ekor/hari dan aluminosilikat 2 mg/ekor/hari.

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan ($p < 0,05$)



Gambar 1. Gambaran histopatologis ovarium pada setiap perlakuan menunjukkan jumlah folikel yang berbeda, yakni : a. Folikel primer; b. Folikel sekunder; c. Folikel tersier; d. Folikel *de Graaf*.

K+ : tidak dipapar *zearalenon* dan aluminosilikat; K- : dosis *zearalenon* 0,1 mg/ekor/hari; P1 : dosis *zearalenon* 0,1 mg/ekor/hari dan aluminosilikat 0,5 mg/ekor/hari; P2 : dosis *zearalenon* 0,1 mg/ekor/hari dan aluminosilikat 1 mg/ekor/hari; dan P3 : dosis *zearalenon* 0,1 mg/ekor/hari dan aluminosilikat 2 mg/ekor/hari.
(Pewarnaan HE; Perbesaran 100 kali; Mikroskop Olympus® CX-41)



Gambar 2. Tanda panah menunjukkan perbedaan intensitas warna kecoklatan pada sel granulos mengindikasikan ekspresi *caspase-9*. Perlakuan K- berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan K+, P1, P2, dan P3. Perlakuan P1, P2 dan P3 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$).
(Pewarnaan IHC; Perbesaran 400 kali; Mikroskop Olympus® CX-41).

menembus membran sel epitel kubus selapis penyusun sel granulosa untuk mengikat reseptor estrogen (E_2) di dalam sitosol. Ikatan respons kompleks berupa *Zearalenone E₂ Receptor Complex* (ZEA- E_2 R), mengaktifkan respons mRNA yang umumnya diperankan oleh reseptor estrogen (E_2) (Malekinejad *et al.*, 2005; Frizzell *et al.*, 2011).

Ikatan ZEA- E_2 R yang telah mengaktifkan respons mRNA, menghambat proses mitosis *Granulosa Cumulus Cells* (GCs) pada folikel primer. *Granulosa Cumulus Cells* (GCs) berkembang membentuk lapisan-lapisan sel granulosa matang dan memproduksi beberapa sitokin seperti, *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1), *Fibroblastic Growth Factor Family-2* (FGF-2), dan *Stem Cell Factor* (SCF). *Stem Cell Factor* (SCF) menginisiasi perkembangan oosit pada folikel primer dan menstimulasi mitosis sel teka. *Fibroblastic Growth Factor Family-2* (FGF-2) menekan apoptosis GCs dan membantu SCF dalam mematangkan oosit. *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) berperan penting dalam mengirimkan impuls menuju hipofisis anterior untuk melepaskan FSH sebagai inisiator proliferasi folikel (Tiemann *et al.*, 2003; Johnson, 2007).

Zearalenon tidak berdampak secara spesifik pada korpus luteum. Jumlah korpus luteum pada ovarium kanan dan kiri sangat dipengaruhi oleh keberadaan hormon LH *surge* yang menginduksi sel teka untuk selanjutnya membantu proses ovulasi. *Zearalenon* hanya dapat mempengaruhi sampai periode preovulatori (Samik dan Safitri, 2017).

Hiperestrogenisme akan mengganggu konsistensi *Permeability Transmissible Pore* (PTP) pada membran mitokondria dan aktifnya megakanal yang juga akan diikuti masuknya ion Ca^{2+} ekstrasel dan terakumulasi dengan ion Ca^{2+} intrasel yang terdapat pada mitokondria. Kadar Ca^{2+} yang tinggi akan meningkatkan ekspresi *Bcl-2-associated-x protein* (bax) dan menurunkan *B-cell lymphoma-2* (bcl-2) (Maresca dan Fantini, 2010).

Rilisnya *sitokrom-c* ke dalam sitosol akan mengikat *Apoptotic Protease Activating Factor-1* (Apaf-1) bersama dengan dATP dan *procaspase-9* untuk mengaktifkan *caspace-9* (Kumar *et al.*, 2005). *Caspase-9* bertindak sebagai inisiator apoptosis akan terdimerisasi memicu umpan balik dengan menghambat pelepasan bcl 2 dan mengikat *procaspase-3* untuk mengaktifkan *caspace-3*. *Caspase-3* bertindak sebagai eksekutor akan membantu aktivasi endonuklease

dan protease sitoplasmik yang akan memfragmentasi DNA nukleus dan mendegradasikan protein sitosol. Hasil akhir pada proses fragmentasi akan terbentuk *apoptotic bodies* yang mengandung organel intrasel dan mengekskresikan fosfatidilserin yang akan memicu proses fagositosis (Kumar *et al.*, 2005; Guerrero *et al.*, 2012).

Aluminosilikat merupakan derivat dari senyawa silikat yang dapat mengikat gugus metil α -*Zearalenol* dan β -*Zearalenol*. Berdasarkan percobaan yang dilakukan secara *in vitro*, keberadaan mineral ion aluminium dapat meningkatkan polarisasi untuk mengikat sisi aktif dari *zearalenon* yakni gugus metil. Afinitas aluminium yang sangat tinggi dapat menurunkan bioavailabilitas toksin sebelum diedarkan melewati sistem sirkulasi. Ikatan aluminium sebagai bahan *chemisorption* pada gugus metil, menyisakan karbon aktif sehingga dapat digunakan tubuh membentuk antidota yang menginaktivasi mikotoksin (Watts *et al.*, 2003; Doll *et al.*, 2004).

SIMPULAN

Mencit yang dipapar *zearalenon* dan kemudian diberi aluminosilikat dosis 2 mg/ekor/hari mengalami peningkatan jumlah folikel primer, sekunder, tersier, dan *de Graaf*. Mencit yang dipapar *zearalenon* dan kemudian diberi aluminosilikat dosis 0,5 mg/ekor/hari mengalami penurunan ekspresi *caspace-9* ovarium.

SARAN

Penelitian lanjutan perlu dilakukan mengenai potensi aluminosilikat terhadap fisiologi dan patologi organ testis, plasenta foetalis, kadar testosteron, kadar estrogen, dan kadar ROS baik hewan jantan maupun betina yang terpapar *zearalenon*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pembimbing penelitian, tim peneliti mikotoksin *zearalenon*, dan dukungan dana dari Lembaga Penelitian dan Inovasi (LPI) Universitas Airlangga sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Casteel SW, Rottinghouse GE. 2000. Mycotoxicoses. *J Microbiol* 3: 337-348
- Diaz DE, Hagler WM, Blackwelder JT, Eve JA, Hopkins BA, Anderson KL, Jones FT, Whitlow LW. 2004. Aflatoxin binders II: Reduction of aflatoxin M1 in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. *Mycopathologia* 157: 233-241
- Döll S, Dänicke S, Valenta H, Flachowsky G. 2004. In vitro studies on the evaluation of mycotoxin detoxifying agents for their efficacy on deoxynivalenol and zearalenone. *Arch Anim Nutr* 58: 311-324.
- Frizzell C, Ndossi D, Verhaegen S, Dahl E, Eriksen G, Srrlie M, Ropstad E, Muller M, Elliott CT, Connolly L. 2011. Endocrine disrupting effects of zearalenone, alpha- and beta-zearalenol at the level of nuclear receptor binding and steroidogenesis. *Toxicol Lett* 206: 210-217.
- Gajecka M. 2012. The effect of low-dose experimental zearalenone intoxication on the immunoexpression of estrogen receptors in the ovaries of pre-pubertal bitches. *J Vet Sci* 15(4): 685-691
- Gellerich FN, Gizatullina Z, Trumbeckaite S, Nguyen HP, Pallas T, Arandarcikaite O, Vielhaber S, Seppet E, Strig-gow F. 2010. The regulation of OXPHOS by extra-mitochondrial calcium. *Biochem Biophys Acta* 1797: 1018-1027.
- Guerrero AD, Schmitz I, Chen M, Wang J. 2012. Promotion of caspase activation by caspase-9 mediated feedback amplification of mitochondrial damage. *J Clin Cell Immunol* 3: 3
- Huwig A, Freimund S, Kappeli O, Dutler H. 2001. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicol Lett* 122(2001): 179-188
- Johnson MH. 2007. Ovarian Function in The Adult. Dalam: *Essential Reproduction*. 6th. Sydney. Blackwell Publishing. Hlm. 80-101
- Jouany JP. 2007. Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxin in feeds. *Anim Feed Sci Technol* 137: 342-362
- Kumar V, Cotran RS, Robins S. 2005. *Basic Pathology* 7th Ed. Alih bahasa. Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hlm: 3-33
- Kusriningrum RS. 2008. *Perancangan Percobaan*. Surabaya. Airlangga University Press. Hlm. 5-11
- Laurence DR, Bacharach AL. 1993. *Evaluation of Drug Activities and Pharmacometrics*. New York. Academic Press. Hlm. 160-161
- Luo C, Zuniga J, Edison E, Palla S, Dong W, Parker-Thornburg J. 2011. Superovulation strategies for 6 commonly used mouse strains. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 50(4): 471-478
- Malekinejad H, Mass-Bakker RF, Fink-Gremmels J. 2005. Bioactivation of zearalenone by porcine hepatic biotransformation. *In Vet Research* 36(5-6): 799-810.
- Maresca M, Fantini J. 2010. Some food-associated mycotoxins as potential risk factors in humans predisposed to chronic intestinal inflammatory diseases. *Toxicol* 56: 282-294.
- Nikov GN, Hopkins NE, Boue S, Alworth WL. 2000. Interactions of dietary estrogens with human estrogen receptors and the effect on estrogen receptor-estrogen response element complex formation. *Environ Health Perspect* 108: 867-872.
- Nuryono N, Noviandi CT, Bohm J, Razzazi-Fazeli E. 2003. A limited survey of zearalenone in Indonesian maize-based food and feed by ELISA and high performance liquid chromatography. *J Food Cont* 16(1): 65-71
- Schall N, Simmler-Hubenthal H, Hermann FG. 2000. Mycotoxin-Adsorbens. *Ger Offen DE* 8: 13
- Sinuhaji I, Siregar B, Lisnawati. 2013. Ekspresi p16^{INK4A} pada Karsinoma Serviks Usia Muda. *J Indo Med Assoc* 63: 1
- Tiemann U, Viergutz T, Jonas L, Schneider F. 2003. Influence of the mycotoxins a- and b-zearalenol and deoxynivalenol on the cell cycle of cultured porcine endometrial cells. *J Reprod Toxicol* 17(2): 209-218
- Watts CM, Chen YC, Ledoux DR, Broomhead JN, Bermudez AJ, Rottinghaus GE. 2003. Effect of multiple mycotoxins and a Hydrated sodium calcium aluminosilicate in poultry. *J Poul Sci* 2(6): 372-378