

Preparasi Jaringan dan Identifikasi Kerusakan Hati Tikus Yang Diinduksi Fenilhidrazin (PHZ)

M. Reyza Akbar^{1*}, Ema Marminto², Manasalwah Alina Putri³, Fitra Wahyuni⁴,
Anggit Prima Nugraha⁵, Anggari Linda Destiana⁶, Ade Adriadi⁷

¹⁻³Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi, Provinsi Jambi

⁴⁻⁷Dosen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi, Provinsi Jambi

*Penulis Korespondensi: reyzaakbar03@gmail.com

Abstract. Phenylhydrazine (PHZ) is a chemical compound that can induce hemolytic anemia and oxidative stress in experimental animals. This study aims to perform liver tissue preparation and identify histopathological changes caused by PHZ induction. White rats (*Rattus norvegicus*) were divided into two groups: the control group given 0.9% saline and the treatment group induced with PHZ at a dose of 60 mg/kg body weight intraperitoneally for three consecutive days. Tissue preparation included fixation using 10% formalin, dehydration with graded alcohol (70%, 80%, 90%, and 100%), clearing using xylene, embedding in paraffin, tissue sectioning at 4-5 μ m thickness with a microtome, and Hematoxylin-Eosin (HE) staining. The results showed that PHZ induction caused a significant decrease in hemoglobin levels from 17-21 g/dL to 9.5-11.3 g/dL. Histological observation of liver tissue in PHZ-induced rats showed hepatocyte degeneration, cytoplasmic vacuolization, sinusoidal congestion, inflammatory cell infiltration, and cell necrosis. Spleen tissue showed red pulp hyperplasia and increased phagocytic activity. The tissue preparation successfully produced good histological preparations and allowed clear identification of histopathological changes. It can be concluded that phenylhydrazine is hepatotoxic and causes liver tissue damage through oxidative stress mechanisms.

Keywords: Phenylhydrazine; Tissue Preparation; Histopathology; Rat Liver; Oxidative Stress.

Abstrak. Fenilhidrazin (PHZ) merupakan senyawa kimia yang dapat menginduksi anemia hemolitik dan stres oksidatif pada hewan coba. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan preparasi jaringan hati tikus dan mengidentifikasi perubahan histopatologis yang diakibatkan oleh induksi PHZ. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol yang diberi saline 0,9% dan kelompok perlakuan yang diinduksi PHZ dengan dosis 60 mg/kg berat badan secara intraperitoneal selama tiga hari berturut-turut. Preparasi jaringan meliputi tahap fiksasi menggunakan formalin 10%, dehidrasi dengan alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, dan 100%), clearing menggunakan xylol, embedding dalam parafin, pemotongan jaringan setebal 4-5 μ m dengan mikrotom, dan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE). Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi PHZ menyebabkan penurunan kadar hemoglobin secara signifikan dari 17-21 g/dL menjadi 9,5-11,3 g/dL. Pengamatan histologis pada jaringan hati tikus yang diinduksi PHZ menunjukkan adanya degenerasi hepatosit, vakuolisasi sitoplasma, kongesti sinusoid, infiltrasi sel inflamasi, dan nekrosis sel. Jaringan limpa menunjukkan hiperplasia pulpa merah dan peningkatan aktivitas fagositosis. Preparasi jaringan yang dilakukan berhasil menghasilkan preparat histologi yang baik dan memungkinkan identifikasi perubahan histopatologis secara jelas. Dapat disimpulkan bahwa fenilhidrazin bersifat hepatotoksik dan menyebabkan kerusakan jaringan hati melalui mekanisme stres oksidatif.

Kata kunci: Fenilhidrazin; Preparasi Jaringan; Histopatologi; Hati Tikus; Stres Oksidatif.

1. LATAR BELAKANG

Phenylhydrazine (PHZ) merupakan suatu senyawa kimia yang memiliki kemampuan memicu hemolisis pada eritrosit dan secara luas dimanfaatkan sebagai agen

penginduksi anemia hemolitik pada model hewan percobaan. Senyawa ini bersifat hemotoksik, yakni mampu menurunkan konsentrasi hemoglobin serta jumlah eritrosit dalam darah, sekaligus merangsang proses hematopoiesis ekstramedular pada organ seperti limpa dan hati sebagai mekanisme kompensasi tubuh terhadap kondisi anemia. Dari segi mekanisme, PHZ menimbulkan kerusakan melalui jalur stres oksidatif, yaitu dengan mengoksidasi hemoglobin menjadi methemoglobin, mengganggu integritas membran eritrosit, serta memicu terbentuknya *Heinz bodies*. Seluruh proses tersebut pada akhirnya mengakibatkan destruksi eritrosit secara masif (Lin *et al.*, 2013). Hemolisis dalam skala besar ini menyebabkan pelepasan hemoglobin dan besi secara berlebihan ke dalam sirkulasi, sehingga memberikan beban tambahan bagi organ-organ seperti hati, ginjal, dan limpa.

Hati memegang peran sentral dalam memetabolisme produk hasil degradasi eritrosit, termasuk bilirubin. Induksi anemia hemolitik oleh PHZ berpotensi menimbulkan kerusakan hati melalui dua jalur: secara langsung akibat stres oksidatif, maupun secara tidak langsung akibat akumulasi produk pemecahan sel darah. Berbagai studi melaporkan peningkatan kadar enzim hati (ALT dan AST) serta bilirubin total pada tikus yang diberi induksi PHZ, yang mengindikasikan terjadinya hepatotoksisitas. Di samping itu, PHZ juga diketahui menyebabkan gangguan fungsi ginjal dan hati, yang tercermin dari penurunan kadar protein serum akibat kerusakan pada organ-organ tersebut (Tarwoto, 2007).

Dari aspek histologis, perubahan patologis yang diakibatkan oleh PHZ dapat teramati dengan jelas. Pada kondisi normal, jaringan hati menunjukkan susunan lobulus yang teratur, dengan hepatosit yang tersusun secara radial mengelilingi vena sentral, dipisahkan oleh sinusoid, serta dikelilingi oleh triad portal di bagian tepi lobulus. Pasca-pemberian PHZ, diharapkan terlihat perbedaan yang signifikan dibandingkan struktur normal tersebut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara histologis, hati tikus yang diinduksi PHZ mengalami kongesti pada pembuluh darah, di mana vena sentral dan sinusoid tampak dipenuhi oleh eritrosit (Fitmawati *et al.*, 2018). Berbagai perubahan ini menjadikan model kerusakan hati akibat PHZ sangat relevan untuk dipelajari, karena memungkinkan untuk mengamati secara langsung perbedaan antara jaringan normal dan jaringan patologis menggunakan mikroskop cahaya.

Penelitian ini difokuskan pada induksi kerusakan hati tikus menggunakan PHZ selama periode satu minggu, dengan tujuan membandingkan gambaran histopatologi antara hati normal dan hati yang mengalami kerusakan. Melalui kegiatan ini, diharapkan mampu memahami mekanisme anemia hemolitik beserta dampaknya terhadap hati, serta menguasai teknik preparasi sediaan histologi dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE) dan melakukan analisis mikroskopis baik secara kualitatif maupun semi-kuantitatif.

2. KAJIAN TEORITIS

A. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dipilih sebagai model hewan dalam riset toksikologi dan patologi karena memiliki kemiripan fisiologis dan metabolik dengan manusia, serta praktis dalam hal pemeliharaan dan manipulasi eksperimen (Rahmah et al., 2022). Dengan pertimbangan tersebut, penelitian tentang preparasi jaringan dan identifikasi kerusakan hati tikus yang diinduksi fenilhidrazin menjadi penting untuk memberikan pemahaman tentang gambaran histopatologis kerusakan hati akibat stres oksidatif, sekaligus sebagai landasan bagi pengembangan riset toksikologi dan hepatoprotektif di masa depan (Ogunlade & Saalu, 2016).

B. Hati (*Hepar*)

Hati atau hepar adalah organ vital yang memegang peranan kunci dalam berbagai proses metabolisme tubuh, termasuk detoksifikasi zat asing, pengolahan karbohidrat, lemak, dan protein, serta produksi protein plasma. Karena kompleksitas fungsinya, hati menjadi organ yang sangat sensitif terhadap kerusakan akibat eksposur bahan kimia, obat-obatan, dan senyawa beracun. Kerusakan pada organ ini dapat terjadi secara mendadak (akut) atau berkelanjutan (kronis), yang biasanya ditandai dengan alterasi struktur jaringan dan disfungsi fisiologis (Harsa, 2014).

C. *Phenylhydrazine* (PHZ)

Fenilhidrazin (PHZ) merupakan senyawa kimia yang lazim dimanfaatkan dalam studi eksperimental untuk memicu anemia hemolitik dan stres oksidatif pada hewan uji. Mekanisme kerja senyawa ini adalah dengan meningkatkan produksi radikal bebas yang mengakibatkan peroksidasi lipid, kerusakan membran sel, dan kematian seluler. Tidak hanya menyerang eritrosit, toksisitas fenilhidrazin juga mempengaruhi hati sebagai organ

utama dalam metabolisme dan detoksifikasi senyawa asing (xenobiotik) (Unami et al., 1996). Eksposur fenilhidrazin dalam organisme dapat menimbulkan berbagai perubahan patologis pada jaringan hati, mencakup degenerasi sel hepatosit, pembentukan vakuola pada sitoplasma, penyumbatan sinusoid oleh darah, kehadiran sel-sel peradangan, hingga kematian jaringan (nekrosis) (Zulkifli et al., 2014). Fenomena ini dapat dievaluasi melalui analisis histopatologi menggunakan preparat jaringan hati. Oleh sebab itu, proses preparasi jaringan merupakan langkah kritis untuk menjamin kualitas preparat agar struktur jaringan dapat divisualisasikan dengan jelas dan presisi. Tahapan preparasi histologi meliputi fiksasi, dehidrasi, clearing, embedding, pemotongan jaringan, dan pewarnaan. Metode Hematoksilin-Eosin (HE) adalah teknik pewarnaan standar yang digunakan untuk mengidentifikasi perubahan morfologi jaringan hati karena kemampuannya menampilkan kontras yang baik antara inti sel, sitoplasma, dan arsitektur jaringan (Gartner & Hiatt, 2018).

3. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan peralatan bedah, kandang hewan, alat histologi (mikrotom, mikroskop, waterbath, hotplate), serta gelas ukur dan beaker berbagai ukuran. Bahan kimia yang digunakan meliputi alkohol seri (70-100%), formalin, fenilhidrazin (PHZ), hematoksilin, eosin, xylol, entellan, NaCl 0,9%, dan aquades.

A. Prosedur Induksi dan Pengambilan Jaringan

Tikus sehat ditimbang dan dibagi menjadi kelompok Kontrol (K) dan Perlakuan (P). Kelompok P diinjeksi PHZ 60 mg/kg BB secara intraperitoneal selama 3 hari (hari 2-4), sedangkan kelompok K diberi saline 0,9%. Kondisi tikus dipantau harian untuk mengamati tanda anemia. Hari 5-6, tikus diistirahatkan tanpa perlakuan. Hari 7, tikus dieuthanasia, lalu organ hati, ginjal, dan limpa diambil, dicuci saline dingin, dan difiksasi dalam formalin 10% selama minimal 24 jam.

B. Pembuatan Sediaan Histologi

Jaringan didehidrasi dengan alkohol seri, di-clearing dengan xylol, lalu di-embedding dalam parafin. Blok parafin dipotong setebal 4-5 μ m menggunakan mikrotom, direntangkan di waterbath, dan ditempatkan pada kaca objek. Pewarnaan HE dilakukan

melalui tahap dewaxing, rehidrasi, pewarnaan hematoksilin (inti sel) dan eosin (sitoplasma), dehidrasi, clearing, dan mounting dengan entellan.

C. Observasi dan Analisis

Preparat diamati di mikroskop cahaya dengan berbagai pembesaran. Analisis dilakukan secara kualitatif (deskripsi morfologi) dan semi-kuantitatif dengan skoring 0-3 untuk kongesti, degenerasi hepatosit, dan infiltrasi inflamasi pada lima lapang pandang acak. Prosedur mengacu pada prinsip animal welfare dan keselamatan laboratorium.

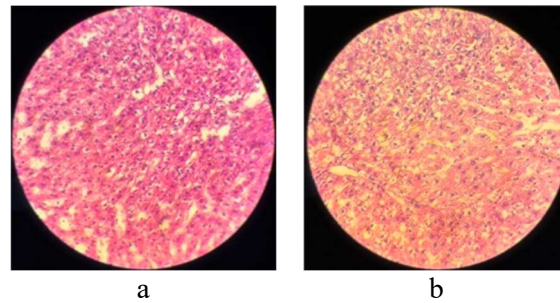
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Fenilhidrazin (PHZ) adalah senyawa kimia yang umum dimanfaatkan dalam studi eksperimental untuk menginduksi anemia hemolitik melalui mekanisme stres oksidatif. Senyawa ini merusak sel darah merah dengan memproduksi radikal bebas yang memicu proses hemolisis. Dampak kondisi ini tidak hanya terbatas pada sistem sirkulasi darah (Pandey et al., 2014), tetapi juga mempengaruhi organ-organ vital seperti hati, limpa, dan ginjal yang berfungsi dalam metabolisme, respons imun, dan eliminasi produk sisa metabolisme (Sheth et al., 2021). Proses preparasi jaringan dari organ-organ tersebut meliputi fiksasi, dehidrasi, clearing, embedding, pemotongan jaringan, dan pewarnaan hematoksilin-eosin (H&E). Rangkaian tahapan ini bertujuan untuk mempertahankan arsitektur jaringan sedekat mungkin dengan kondisi fisiologis normalnya, sehingga alterasi histopatologis yang diakibatkan oleh paparan PHZ dapat divisualisasikan dengan jelas di bawah mikroskop. Kualitas preparasi jaringan merupakan faktor kritis yang menentukan mutu preparat dan validitas interpretasi hasil pengamatan (Suvarna et al., 2018).

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan teknik preparasi jaringan serta mengidentifikasi perbedaan antara kondisi normal dan kerusakan histologis pada organ hati tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi fenilhidrazin (PHZ). Preparasi jaringan merupakan langkah fundamental dalam studi histopatologi mengingat kualitas preparat sangat berpengaruh terhadap kejelasan visualisasi struktur jaringan dan ketepatan identifikasi kerusakan pada tingkat seluler.

Hasil preparasi jaringan hati menunjukkan bahwa serangkaian tahapan fiksasi, dehidrasi, clearing, embedding, pemotongan, dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE)

efektif dalam mempertahankan integritas struktur jaringan hati. Pewarnaan HE menghasilkan kontras yang tajam antara nukleus sel, sitoplasma, dan jaringan ikat di sekitarnya, sehingga memungkinkan observasi optimal terhadap perubahan morfologi hepatosit. Temuan ini mengonfirmasi bahwa pewarnaan HE merupakan metode baku yang digunakan dalam pemeriksaan histopatologi jaringan (Bancroft & Gamble, 2019).



Gambar 2. Perbandingan (a) Organ Hati Normal dan (b) Organ Hati Abnormal

Hasil observasi histologis pada jaringan hati tikus yang terpapar PHZ memperlihatkan adanya alterasi struktural pada sel hepatosit jika dibandingkan dengan jaringan hati yang normal. Berbagai bentuk kerusakan yang teridentifikasi mencakup degenerasi hepatosit, pembengkakan sel (ballooning degeneration), nekrosis, dan dilatasi sinusoid (Yadav & Bhatnagar, 2017). Degenerasi sel ditandai dengan penampilan sitoplasma yang keruh serta terbentuknya vakuola, yang mencerminkan adanya disfungsi metabolisme seluler sebagai akibat dari stres oksidatif. Fenomena pembengkakan sel terjadi karena terganggunya homeostasis ion dan cairan di dalam sel hepatosit (Kiernan, 2015).

Di samping itu, beberapa preparat menunjukkan adanya nekrosis hepatosit yang dapat dikenali melalui hilangnya nukleus (kariolisis), pengerutan nukleus (piknosis), atau pecahnya nukleus menjadi fragmen-fragmen (karioreksis). Keberadaan nekrosis ini mengindikasikan bahwa paparan PHZ pada dosis tertentu dapat menimbulkan kerusakan seluler yang bersifat permanen dan tidak dapat pulih. Kerusakan tersebut memiliki korelasi kuat dengan peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (radikal bebas) dari metabolisme PHZ yang melampaui kemampuan sistem pertahanan antioksidan alami hati (Widowati, 2017).

Dilatasi sinusoid dan kongesti vaskular juga teridentifikasi sebagai respons terhadap gangguan sirkulasi mikro dalam jaringan hepar. Fenomena ini diduga berkaitan dengan meningkatnya beban fungsional hati dalam memetabolisme produk-produk hasil hemolisis eritrosit yang dipicu oleh induksi PHZ. Lebih lanjut, kehadiran sel-sel inflamasi yang berinfiltrasi pada beberapa area jaringan menandakan terjadinya respons peradangan sebagai mekanisme protektif tubuh dalam merespons kerusakan jaringan (Guyton & Hall, 2021).

Pada jaringan hati tikus yang terpapar fenilhidrazin, teramati adanya modifikasi struktur histologis bila dibandingkan dengan jaringan normal. Berbagai perubahan yang teridentifikasi mencakup degenerasi hepatosit, vakuolisasi sitoplasma, kongesti pada sinusoid, infiltrasi sel-sel peradangan, dan pada kasus tertentu ditemukan nekrosis seluler. Temuan kerusakan ini mengindikasikan terjadinya gangguan pada integritas sel hati akibat eksposur terhadap senyawa yang memiliki karakteristik toksik (Mudiana et al., 2023).

Secara fisiologis, hati memiliki kapasitas regenerasi yang cukup tinggi. Namun, paparan berkelanjutan terhadap zat toksik seperti PHZ atau pemberian dalam dosis tinggi dapat menurunkan kemampuan regeneratif organ tersebut dan memperburuk kerusakan jaringan. Dengan demikian, temuan histopatologis dalam penelitian ini membuktikan bahwa PHZ memiliki sifat hepatotoksik serta mampu mengganggu struktur dan fungsi fisiologis hati (Suckow et al., 2012).

Kerusakan yang teramati pada organ hati, limpa, dan ginjal dalam studi ini mengindikasikan bahwa induksi PHZ memberikan dampak sistemik yang luas. Mengingat fungsi utama hati dalam detoksifikasi, peran limpa dalam menghancurkan eritrosit yang rusak, serta tugas ginjal dalam mengekskresikan sisa metabolit, gangguan pada salah satu organ akan meningkatkan beban kerja organ lainnya. Kondisi saling terkait ini pada akhirnya memperburuk tingkat kerusakan jaringan secara keseluruhan (Kumar & Aster, 2020).

Berdasarkan temuan dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa fenilhidrazin secara signifikan memicu perubahan histopatologis pada jaringan hati, limpa, dan ginjal tikus. Penerapan teknik preparasi jaringan yang optimal memfasilitasi visualisasi

kerusakan seluler secara detail, menjadikannya pendekatan yang sangat efektif dalam mengevaluasi efek toksisitas suatu senyawa pada berbagai organ target.

Secara mekanistik, fenilhidrazin diketahui memicu pembentukan radikal bebas yang berujung pada stres oksidatif dan peroksidasi lipid di membran sel. Rusaknya membran sel hepatosit mengakibatkan disfungsi metabolisme yang pada akhirnya berujung pada kematian sel. Hasil ini sejalan dengan studi yang dilakukan oleh Adeyemi dan Sulaiman (2015) serta Abdel-Wahab dan Metwally (2019), yang melaporkan bahwa paparan fenilhidrazin menyebabkan kerusakan histopatologis hepar yang dipicu oleh peningkatan stres oksidatif.

5. KESIMPULAN

Preparasi histologi jaringan hati tikus berhasil dilakukan dengan baik dan menghasilkan preparat yang layak amati. Berdasarkan perbandingan dengan jaringan hati normal yang sehat, induksi fenilhidrazin (PHZ) terbukti bersifat hepatotoksik karena memicu kerusakan struktur sel yang signifikan seperti degenerasi, inflamasi, dan nekrosis melalui mekanisme stres oksidatif. Secara keseluruhan, analisis histologi terbukti menjadi metode yang sangat efektif untuk mengevaluasi dampak toksisitas suatu senyawa terhadap organ hati.

DAFTAR REFERENSI

- Abdel-wahab, W. M & Metwally. M. E. (2019). Protective effect of antioxidants against phenylhydrazine-induced oxidative stress in rat liver. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 33(5): 268-289.
- Adeyemi, O. S & Sulaiman. F. A. (2015). Biochemical and histopathological alterations in phenylhydrazine-induced liver damage in rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*. 7(2): 12-18.
- Bancroft, J. D & Gamble. M. (2019). *Theory and Practice of Histological Techniques* (8th ed.). China: Elsevier.
- Fitmawati., Titrawani & Safitri, W. (2018). Struktur Histologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Berkenhout 1769) Dengan Pemberian Ramuan Tradisional Masyarakat Melayu Lingga, Kepulauan Riau. *Ekotonia: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*. Vol. 3 (1): 11-19.

- Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. (2018). Color atlas and text of histology (7th ed.). Wolters Kluwer.
- Guyton, A. C & Hall. J. E. (2021). Textbook of Medical Physiology (14th ed.). Philadelphia: Elsevier.
- Harsa, I. M. S. (2014). Efek pemberian diet tinggi lemak terhadap profil lemak darah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Jurnal Ilmiah Kedokteran. 3(1): 21-28.
- Kiernan, J. A. (2015). Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice (5th ed.). Banbury: Scion Publishing.
- Kumar, V., Abbas, A. K & Aster, J. C. (2020). Robbins and Cotran pathologic basis of disease (10th ed.). Elsevier.
- Lin, C. Y., Hsiao, W. C., Huang, C. J., Kao, C. F., & Hsu, G. S. W. (2013). Heme oxygenase-1 induction by the ROS–JNK pathway plays a role in aluminum-induced anemia. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 128, 221-228.
- Mudiana, I. W., Sudisma, I G. N., Setiasih, N. L. E., & Sudira. I. W. (2023). Gambaran Histologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberikan Ekstrak Bunga Kecubung (*Datura metel* L.) Sebagai Anestesi. *Journal Institut Pertanian Bogor*. Vol. 11(2): 102-108.
- Ogunlade, B., & Saalu, L. C. (2016). Phenylhydrazine-induced hepatic injury: Histological and biochemical evaluation. *International Journal of Biological Research*. 4(1): 23-29.
- Pandey, K., Meena, A. K., Jain, A., & Singh, R. K. (2014). Molecular mechanism of phenylhydrazine induced haematotoxicity: a review. *Ame J Phytomed Clin Therapeut*. 2(3): 390-394.
- Rahmah, W. N., Ramdhani, F. H., & Hidayani, A. (2022). Pengaruh Pemberian Pakan Rendah Besi Daj Induksi Natrium Nitro Terhadap Potensi Anemia Defisiensi Besi Pada Animal Model Tikus Jantan Wistar. *Bali Medika Jurnal*. 9(3): 277-285.
- Sheth, P. A., Anil, T. P., Chandrashekhar, S. M., & Chandrakant, M. (2021). Antianemic activity of polyherbal formulation, Raktavardhak Kadha, against phenylhydrazine-induced anemia in rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 12(2): 340-345.
- Suckow, M. A., Weisbroth, S. H & Franklin. C. L. (2012). The Laboratory Rat (2nd ed.). London: Academic Press.

- Suvarna, S. K., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2018). Bancroft's theory and practice of histological techniques (7th ed.). Elsevier.
- Tarwoto, N. S. W. (2007). Anemia Pada Ibu Hamil dan Konsep Penatalaksanaan. Jakarta: Trans Info Media.
- Unami, A., Nishina, N., Terai, T., Sato, S., Tamura, T., Noda, K., & Mine, Y. (1996). Effects of cisplatin on erythropoietin production in rats. The Journal of Toxicological Sciences. 21(3): 157-165.
- Widowati. 2017. Oxidative stress and histopathological changes in liver and kidney of experimental rats. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 7(12): 170-176.
- Yadav, S & D. Bhatnagar. 2017. Oxidative stress and chemical-induced organ toxicity in experimental animals. Toxicology Reports. 4(9): 244-252.
- Zulkifli., Maruni, W.D., Yunan, J., Laksmi, S. (2014). Jumlah Eritrosit Darah Tepi Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Yang Diberikan 55 Air Seduhan Kelopak Bunga Rosela Merah (*Hibiscus sabdariffa*). Media Bina Ilmiah. 8(4):11-17.