

PENGARUH INHALASI FORMALDEHIDA TERHADAP PERUBAHAN KONDISI HEPAR PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR (*RATTUS NORVEGICUS*)

Ini Hidayat Makbul¹, Ima Arum Lestari², Anak Agung Ayu Niti Wedayani³

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Mataram, Mataram, Indonesia, spdyayat21@gmail.com

²Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Mataram, Mataram, Indonesia, imaarum@unram.ac.id

³Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Mataram, Mataram, Indonesia, nwedayani@gmail.com

ABSTRAK

Formaldehida adalah zat kimia berbahaya yang dapat ditemukan secara umum di lingkungan yang batas hariannya adalah sebesar 0.08 ppm. Pada beberapa sektor pekerjaan, dapat terjadi paparan hingga 60 ppm. Formaldehida memiliki berbagai efek pada fungsi sel dan dapat menyebabkan produksi senyawa pro-oksidan di dalam tubuh. Ketika konsentrasi konsentrasi pro-oksidan lebih tinggi dibanding konsentrasi senyawa antioksidan, dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif memiliki dampak langsung pada kondisi hepar dan dapat menginduksi aktivasi mediator inflamasi, peroksidasi lipid, degradasi proteosomal, dan disfungsi mitokondria yang mengakibatkan perubahan kondisi mikroskopik hingga makroskopik pada hepar. Penelitian ini menggunakan 16 sampel tikus Wistar, terbagi kedalam 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan akan mendapatkan perlakuan berupa 20, 30, dan 40 ppm formaldehida 10% selama 16 minggu. Setelah minggu ke- 16, tikus dari setiap kelompok akan dilakukan penilaian enzim ALT, pengukuran berat hepar, dan penilaian kerusakan struktural hepatoseluler. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengujian Obat dan Laboratorium Penelitian Program Studi Farmasi Universitas Mataram, dan Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Gadjah Mada. Dari penelitian ini didapatkan hasil bahwa induksi formaldehida 10% selama 16 minggu memiliki pengaruh signifikan terhadap elevasi enzim ALT ($p=0.000$), elevasi berat hepar ($p=0.007$), dan perubahan nyata pada struktur mikroskopis hepar dengan memperlihatkan terbentuk jaringan fibrosa dengan infiltrasi limfosit pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil penelitian ini memberikan bukti nyata efek berbahaya paparan formaldehida secara inhalasi, terutama terhadap kondisi hepar.

Kata Kunci: Inhalasi formaldehida., kerusakan hepatoseluler., hepatotoksitas., intoksikasi formaldehida

ABSTRACT

Formaldehyde is a dangerous chemical that can be commonly found in an environment with a daily limit of 0.08 ppm. In some sectors of work, exposures of up to 60 ppm can occur. Formaldehyde has a variety of effects on cellular function and can cause the production of pro-oxidant compounds in the body. When the pro-oxidant concentration is higher than the concentration of the antioxidant compound, it can cause oxidative stress. Oxidative stress has a direct effect on the hepatic condition and can induce the activation of inflammatory mediators, lipid peroxidation, proteosomal degradation, and mitochondrial dysfunction resulting in changes in the microscopic to macroscopic condition of the liver. The study used 16 samples of Wistar rats, divided into one control group and three treatment groups. The treatment group will receive 20, 30, and 40 ppm of 10% formaldehyde for 16 weeks. After the 16th week, rats from each group will undergo an ALT enzyme assessment, hepar weight measurement, and an assessment of hepatocellular structural damage. The research was conducted at the Drug Testing Laboratory and the Research Laboratory of the Mataram University Pharmaceutical Studies Program, and the Patology Anatomy Laboratory at Gadjah Mada University. The study found that induction of 10% formaldehyde over 16 weeks had a significant effect on the elevation of the ALT enzyme ($p=0.000$), hepatic weight elevation ($p=0.007$), and significant changes in the hepatic microscopic structure by showing fibrous tissue formation with lymphocyte infiltration in the treatment group compared to the control group. The results of this study provide valuable information of the harmful effects of inhaled formaldehyde exposure, especially on the liver.

Keywords : Formaldehyde inhalation., hepatocellular changes., hepatotoxicity., formaldehyde intoxication

PENDAHULUAN

Formaldehida (FA) merupakan suatu senyawa kimia yang bersifat sangat reaktif terhadap makromolekul seluler, seperti DNA dan protein. FA juga diproduksi tubuh kita melalui proses enzimatik dalam konsentrasi yang lebih kecil (1). FA eksogen masuk kedalam tubuh manusia hampir melalui seluruh rute tubuh. FA yang terhirup ke dalam tubuh secara inhalasi lebih umum terjadi dan dapat berimplikasi pada peningkatan ROS yang dapat menyebabkan stres oksidatif (2-4). Beberapa studi sebelumnya telah membahas prevalensi paparan FA, seperti studi yang dilakukan oleh Driscoll *et al.* (2015) pada prevalensi pekerja yang terpapar FA di Australia. Driscoll, *et al* mengungkapkan dari 4.993 peserta, ada 124 peserta (2,5%) yang terpapar FA, dan 67 dari mereka bekerja di sektor teknis dan komersial (5). FA dapat menginduksi pembentukan Reactive Oxygen Species (ROS) dan perubahan konsentrasi enzim antioksidan. FA juga memediasi terjadinya peroksidasi lipid dan peroksidasi protein yang dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif (6). Stres oksidatif yang berkepanjangan oleh paparan FA, berhubungan dengan aktivasi mediator inflamasi *Tumor Necrosis Factor* α (TNF- α) yang diaktivasi oleh *Nuclear Factor* κ B (NF- κ B) (7). Aktivasi yang berkepanjangan dari NF- κ B dapat menyebabkan terjadinya inflamasi seluler. ROS dapat mengganggu homeostasis dari aktivitas mitokondria, hingga dapat menyebabkan nekrosis hepatosit. ROS yang berasal dari mitokondria, retikulum endoplasma, dan peroksisom bertanggung jawab terhadap penyakit pada hepar. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa stres oksidatif dan komponen destruktifnya memiliki hubungan dengan penyakit kronik pada hepar yang hampir semuanya disertai dengan produksi ROS. Ketika konsentrasi ROS terlalu berlimpah didalam tubuh, dapat menyebabkan pergeseran fungsi mitokondria, memodulasi ekspresi sitokin pro-inflamasi, mengaktifkan respons imun, dan mengaktifkan kaskade inflamasi hingga akhirnya menyebabkan kerusakan hepatoseluler yang dapat berujung pada fibrosis hepar (8). Mayoritas dari penyakit hepar disebabkan oleh paparan domestik kepada senyawa yang bersifat toksik, seperti halnya FA yang sangat umum ditemukan di dunia, terutama pekerja yang berada pada sektor laboratorium dan pabrik dengan jumlah paparan hingga 60 ppm (9). Disamping metode paparannya, FA utamanya akan mengalami metabolisme di hepar, namun metabolisme FA ini memiliki dampak negatif pada hepar. Metabolisme FA akan menyebabkan peningkatan keasaman tubuh, peningkatan konsentrasi CO₂ tubuh, dan peningkatan konsentrasi ROS tubuh. Pada konsentrasi tertentu, paparan FA dapat merusak hepar atau yang dinamakan hepatotoksitas. Toksisitas ini ditandai dengan berkurangnya marka antioksidan dan meningkatnya enzim hepar seperti AST dan ALT (10). Sejauh ini, penelitian yang berfokus pada efek paparan FA secara inhalasi terutama terhadap hepar masih sangatlah kurang, sehingga penelitian ini kemudian diangkat untuk memberikan tambahan bukti nyata paparan persisten FA 10% secara inhalasi selama 16 minggu terhadap kondisi hepar.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan studi penelitian eksperimental prospektif yang berlangsung selama 16 minggu, terhitung dari

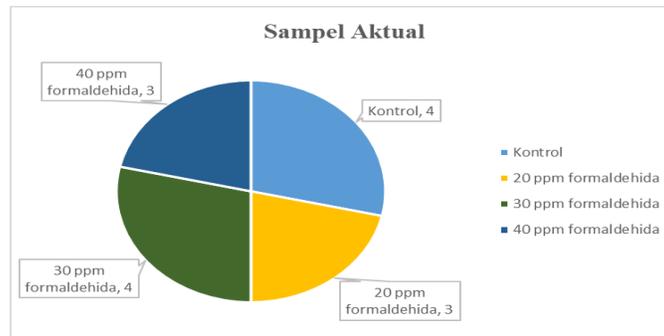
Januari hingga Mei 2023 setelah mendapat izin dari komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Mataram dengan nomor etik 106/UN18.F8/ETIK/2023. Studi ini menggunakan sampel tikus Wistar jantan dengan berat 150 – 200 gram berjumlah 16 ekor yang dibagi kedalam 4 kelompok, dengan 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Setiap tikus mendapatkan lingkungan yang sama dengan satu tikus berada dalam satu buah kandang plastik dengan luas 148 cm² dan tinggi 17.8 cm yang ditutupi oleh jaring berbahan kawat besi. Suhu ruangan ditetapkan 18 - 27°C dalam sirkulasi ruangan dan intensitas cahaya bergantian gelap terang selama masing-masing 12 jam.

Sebelum perlakuan, tikus diaklimatisasi terlebih dahulu dengan lingkungannya dengan diberi pakan standar dan air putih secara rutin. Dalam persiapan perlakuan, formaldehida dengan konsentrasi 37% dilarutkan hingga konsentrasi formaldehida menjadi 10%. Substitusi kelompok dibagi menjadi 4 kelompok dengan kelompok pertama adalah kelompok kontrol, kelompok kedua diberi perlakuan induksi 20 ppm formaldehida, kelompok ketiga diberikan perlakuan induksi 30 ppm formaldehida, kelompok keempat diberi perlakuan induksi 40 ppm formaldehida. Proses induksi dilangsungkan secara inhalasi dengan meneteskan larutan formaldehida kedalam kapas yang telah ditimbang sebelumnya dan diletakkan pada masing-masing kandang menggunakan mikropipet. Setelah diinduksi, kandang tikus akan ditutup pada bagian atasnya menggunakan plastik untuk mencegah evaporasi keatas dan menjaga sirkulasi hanya melalui ventilasi samping kandang. Proses ini dibiarkan selama 6 jam, setelah itu plastik penutup kandang akan dibuka dan kapas induksi akan ditimbang kembali beratnya, kemudian diulang secara konsisten setiap harinya hingga 16 minggu.

Proses pengambilan sampel dari tikus dimulai dari proses anestesi menggunakan larutan kloroform 10% secara inhalasi. Tikus kemudian di ambil darahnya melalui retro orbita dan selanjutnya dilakukan prosedur eutanasia dan pembedahan untuk mengambil spesimen organ hepar. Darah ditampung menggunakan tabung plain dan selanjutnya dilakukan sentrifugasi untuk mengambil serum dan dilakukan penilaian konsentrasi enzim ALT menggunakan spektrofotometri SPECORD® 200 Plus, Analytik Jena Company, Jerman. Sedangkan untuk spesimen hepar diambil dan ditimbang beratnya menggunakan timbangan analitik. Setelah semua data terkumpul, dilakukan analisis data menggunakan software IBM SPSS-25®. Data hasil dilakukan analisis univariat untuk mengetahui statistik deskriptif, dan analisis bivariat menggunakan *One-way Analysis of Variance* (ANOVA) kemudian dilanjutkan dengan uji *Post-hoc* menggunakan *Duncan's test*.

HASIL

Penelitian ini menggunakan 16 tikus yang terbagi dalam 4 kelompok dengan tiap kelompok berisi 4 sampel tikus Wistar, tetapi pada saat penelitian terdapat 1 tikus yang mati dari kelompok perlakuan 20 ppm formaldehida, dan 1 tikus yang mati dari kelompok 40 ppm formaldehida, sehingga jumlah aktual sampel dalam penelitian ini adalah 14 ekor tikus.



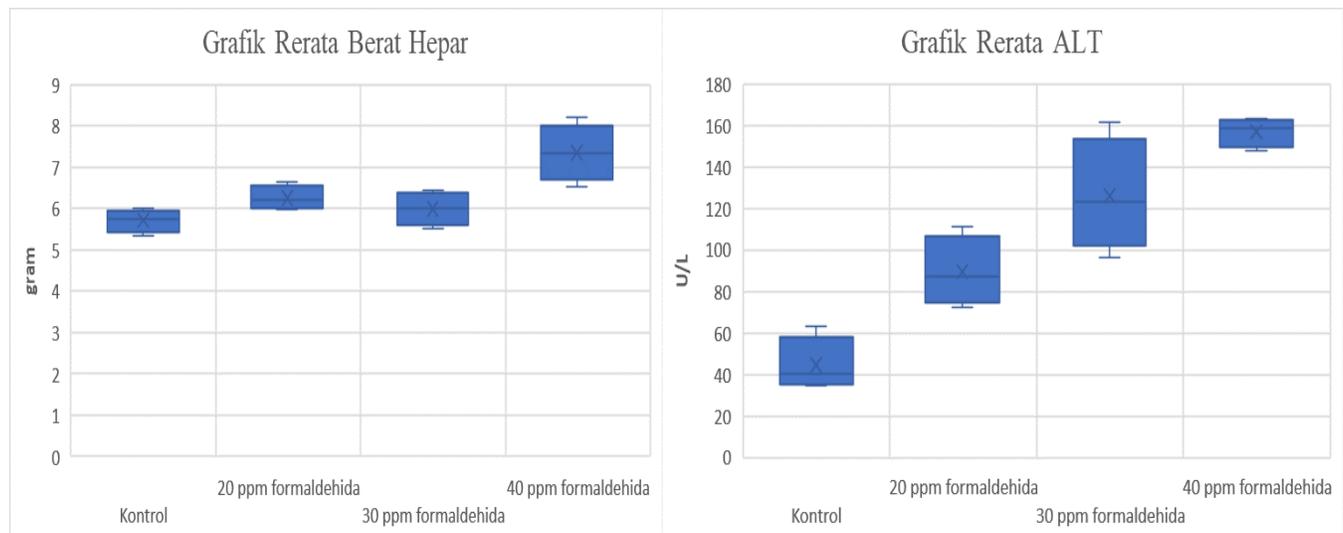
Gambar 1: Sampel aktual penelitian

Setelah memeriksa berat hepar dan konsentrasi enzim ALT pada setiap kelompok, didapatkan nilai rerata berat hepar dan konsentrasi enzim ALT yang bervariasi seperti terlihat pada Tabel

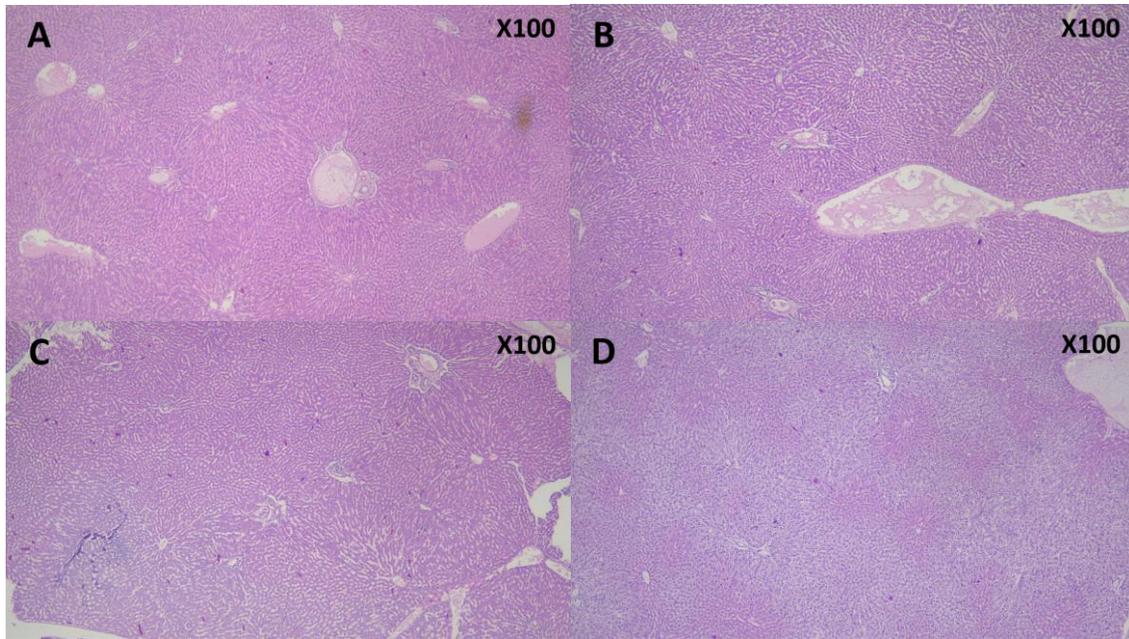
1 dan Gambar 2. Pemeriksaan kemudian dilanjutkan dengan memeriksa kondisi struktural hepatoseluler seperti terlihat pada Gambar 3.

Tabel 1: Efek induksi formaldehida terhadap berat hepar dan enzim ALT pada tikus Wistar

	Kontrol	20 ppm FA	30 ppm FA	40 ppm FA
Rerata berat hepar	5.71 ± 0.14	6.35 ± 0.17	6.00 ± 0.20	7.34 ± 0.49
Rerata ALT	44.66 ± 6.41	82.25 ± 5.97	134.90 ± 9.38	160.13 ± 2.41



Gambar 2: Rerata berat hepar dan ALT pada setiap kelompok setelah perlakuan



Gambar 3: Hasil pemeriksaan histopatologis hepar. (A) Kontrol: Normal; (B) 20 ppm FA: Umumnya portal mengalami fibrosis dengan infiltrasi limfosit pada periportal; (C) 30 ppm FA: Umumnya portal mengalami fibrosis dengan infiltrasi limfosit pada periportal; (D) 40 ppm FA: Umumnya portal mengalami fibrosis, sebagian tampak meluas, dengan infiltrasi limfosit pada periportal, hepatosit mengalami bulging

Analisis data kemudian dilanjutkan dengan uji *One-way ANOVA* setelah distribusi kedua data dinyatakan normal ($p > 0.05$) dan homogen ($p > 0.05$). Melalui uji *One-way ANOVA* didapatkan hasil bahwa FA secara signifikan berpengaruh terhadap berat hepar ($p = 0.007$) dan konsentrasi

enzim ALT ($p = 0.000$) yang dapat dilihat pada Tabel 2. Uji kemudian dilakukan dengan metode *Post-hoc Duncan's test* untuk mengkategorikan kelompok dengan pengaruh paling signifikan dari setiap variabel seperti pada Tabel 3.

Tabel 2: Hasil uji menggunakan *One-way ANOVA*

		One way ANOVA	
	Kategori		Sig.
Berat hepar			0.007
Enzim ALT			0.000

Tabel 3: Uji *Post-hoc* dengan metode *Duncan's test* pada setiap kelompok setelah perlakuan

Post-hoc Duncan's Test Konsentrasi ALT					
Kelompok	Jumlah	Kategori Duncan			
		1	2	3	4
Kontrol	4	44.6650			
20 ppm FA	4		82.2533		
30 ppm FA	4			126.2000	
40 ppm FA	4				160.1267
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Post-hoc Duncan's Test Berat Hepar			
Kelompok	Jumlah	Kategori Duncan	
		1	2
Kontrol	4	5.7125	
20 ppm FA	4	6.0000	
30 ppm FA	4	6.3467	
40 ppm FA	4		7.3400
Sig.		0.129	1.000

PEMBAHASAN

Pajanan FA dengan dosis rendah secara inhalasi merupakan sesuatu yang umum terjadi di sekitar kita. WHO menetapkan paparan harian FA adalah sebesar 0.08 ppm (2). Berbeda dengan yang terjadi pada pekerja di sektor laboratorium ataupun pabrik, mereka lebih sering terkena paparan FA dengan dosis hingga 17.051 ppm dan 60.77 ppm (9). Penggunaan FA pada negara-negara berkembang cenderung disalahgunakan dan tidak dimonitor oleh pemerintah. Akibatnya adalah sejumlah besar masyarakat terkena dampak negatif dari FA seperti kerusakan pada hepar (10).

FA merupakan senyawa reaktif yang bersifat toksik bagi sel. Secara normal, seluruh senyawa yang bersifat toksik akan mengalami detoksifikasi di dalam tubuh oleh hepar. Senyawa tersebut akan dirubah menjadi senyawa metabolit non-reaktif oleh bantuan aktivitas enzimatik hepar. Ketika terdapat akumulasi substrat toksik yang berlebih dengan kondisi enzim tubuh yang terbatas, maka produk reaktif dari senyawa tersebut dapat menyebabkan kerusakan selular dan struktural (11). Hepar memiliki sistem mikrosirkulasi yang kompleks guna memetabolisme, transformasi, dan mendetoksifikasi sebagian besar substrat dalam tubuh pada setiap sinusoid hepar. Setelah masuk ke dalam tubuh, baik secara oral maupun inhalasi, FA berdifusi secara cepat pada setiap jaringan termasuk diantaranya hepar, otak, dan testis (3). FA yang masuk dalam sel dapat merusak sel hingga materi makromolekul genetika seperti DNA, RNA, dan protein. IARC mengungkapkan bahwa banyak laporan studi yang membuktikan bahwa terjadi reaksi silang antara FA dan protein dalam skala seluler. Hal ini berimplikasi pada aktivitas seluler yang terganggu hingga berujung pada kerusakan seluler (12). Dalam kondisi fisiologis atau konsentrasi rendah dari FA endogen, FA dapat dimetabolisme sepenuhnya dan tidak menghasilkan metabolit reaktif bagi tubuh. Akan tetapi dalam paparan yang lebih tinggi, akumulasi FA terjadi di hepar yang akan menyebabkan cedera hepatosit (3). Cedera hepatosit ini akan ditandai dengan elevasi dari enzim aminotransferase AST dan ALT (25).

Dalam penelitian ini, tikus diinduksikan dengan FA yang telah diakui secara internasional oleh IARC sebagai agen yang bersifat sangat iritatif, korosif, dan karsinogenik. Secara alamiah, FA akan mengalami metabolisme menjadi senyawa yang bersifat non-reaktif pada hepar dengan bantuan enzim ADH5, ALDH2, dan GSH (13). Berdasarkan data dari WHO, batas paparan FA dalam ruangan adalah sebesar $0,1 \text{ mg/m}^3$ (0,008 ppm) (2). Hal ini didasarkan pada FA yang memiliki kemampuan difusi yang sangat cepat dan bersifat destruktif bagi sel oleh karena reaktifitasnya yang tinggi dan proses metabolisme enzimatik dari FA yang berlangsung relatif lambat oleh karena keterbatasan jumlah enzim yang memetabolisme (3,14). Pada penelitian yang dilakukan oleh Afrin M. *et al.* (2016) dengan melakukan induksi FA secara oral dan intraperitoneal dengan dosis 5 mg/kg, 7 mg/kg, dan 10 mg/kg selama 30 hari menyatakan

bahwa induksi FA secara oral maupun intraperitoneal secara signifikan menyebabkan elevasi AST dan ALT dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p < 0.05$), dan secara nyata menyebabkan nekrosis sentrilobular hepatosit. Penelitian yang dilakukan oleh Adetuyi *et al.* (2020) juga menyatakan bahwa tikus yang diinduksikan FA dengan konsentrasi 40% secara inhalasi sebanyak 50 mL pada kapas dengan durasi 30 menit per hari selama 2 minggu secara signifikan menyebabkan elevasi enzim AST, ALT, dan ALP ($p < 0.05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol, dan secara nyata menyebabkan infiltrat periportal dengan kongesti. Pada penelitian ini, perlakuan yang digunakan adalah induksi 20, 30, dan 40 ppm FA dengan konsentrasi 10% secara inhalasi dengan durasi 6 jam per hari selama 16 minggu sehingga dampak paparan yang dihasilkan bersifat lebih kronis. Hasil dari penelitian ini menunjukkan terdapat pengaruh yang signifikan antara inhalasi FA dengan dosis 20, 30, dan 40 ppm terhadap elevasi enzim ALT. Hasil dari penelitian ini menyatakan bahwa elevasi enzim ALT akan semakin bermakna seiring dengan peningkatan dosis paparan FA. Hasil uji *Post-hoc* dengan metode *Duncan's test* menyatakan bahwa setiap dosis paparan FA memiliki kategori kelompok Duncan masing-masing dengan paparan 40 ppm berada dalam kategori tertinggi, sehingga dapat diinterpretasikan bahwa paparan 40 ppm FA memiliki pengaruh paling nyata terhadap elevasi enzim ALT, diikuti oleh paparan 30 ppm, kemudian paparan 20 ppm FA.

Stres oksidatif yang diakibatkan oleh pajanan FA juga bertanggung jawab terhadap terjadinya kerusakan hepatoseluler. Akumulasi ROS intraseluler dalam keadaan stres oksidatif memiliki peran terhadap destruksi sel dengan menyebabkan pergeseran fungsi mitokondria, memodulasi ekspresi sitokin pro-inflamasi, mengaktifasi respons imun, dan mengaktifkan kaskade inflamasi hingga akhirnya menyebabkan kerusakan secara langsung pada hepatoseluler (8,10). FA menyebabkan terjadinya elevasi marka pro-oksidan seperti H₂O₂ dan MDA, dan depresi marka anti-oksidan seperti GSH, GST, katalase, dan SOD. Konsentrasi pro-oksidan intraseluler yang tinggi bertanggung jawab terhadap kerusakan selular, tetapi fakta penting lainnya adalah harus adanya keseimbangan melalui marka antioksidan, sehingga ketika marka pro-oksidan lebih tinggi dibandingkan marka antioksidan akan menyebabkan terjadinya aktivasi kaskade pro-apoptosis mitokondria yang diikuti kemampuan regenerasi selular yang sangat berkurang sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan hingga kematian hepatosit yang kemudian akan menyebabkan terbentuknya jaringan ikat fibrosa untuk menggantikan jaringan yang mengalami kerusakan (10,15).

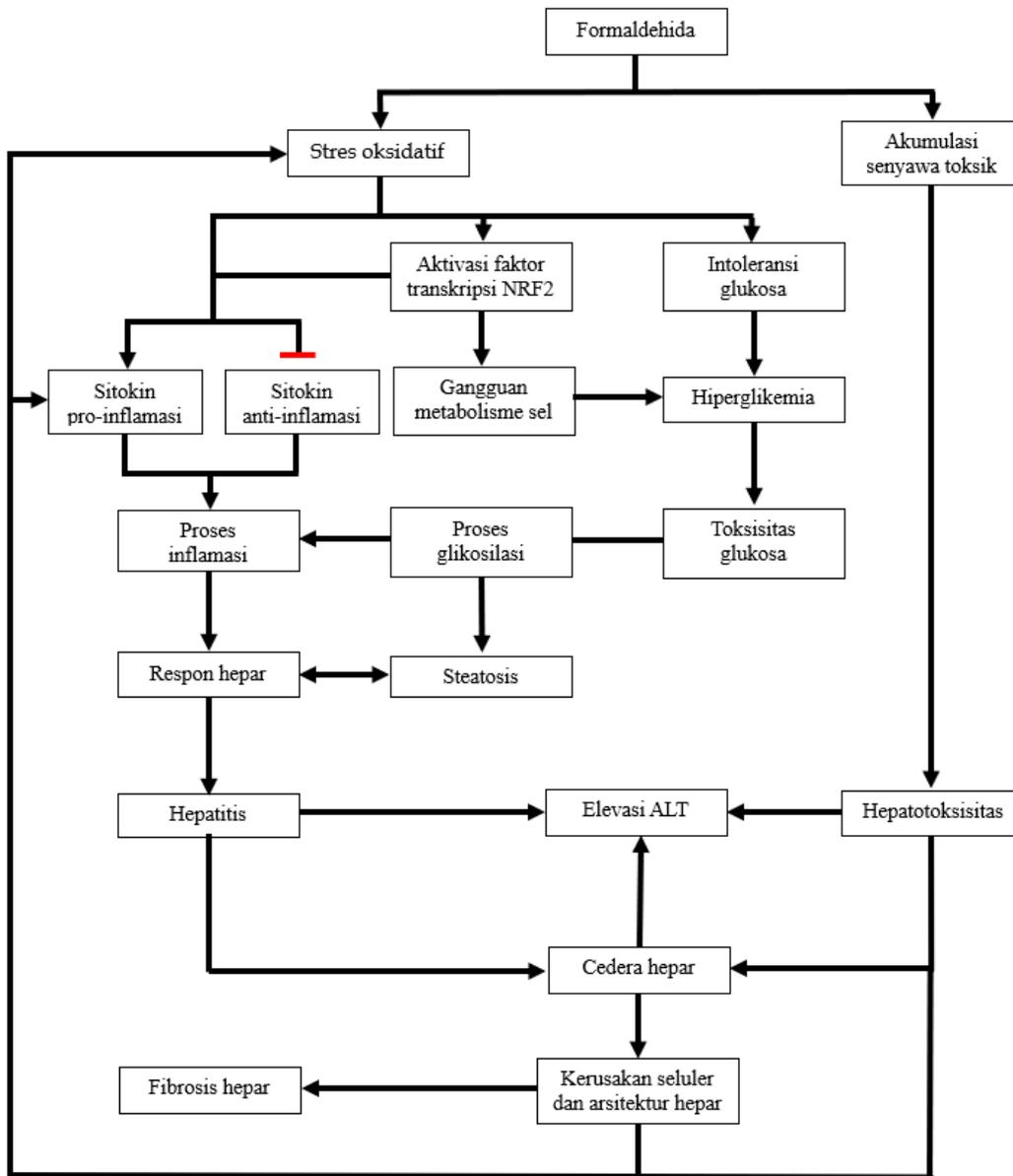
Kerusakan hepar merupakan hal yang umum terjadi oleh karena peningkatan stres oksidatif dan bertanggung jawab terhadap progresifitas dari steatosis, fibrosis, sirosis, menuju karsinoma hepatoseluler (10). Hal ini juga diungkapkan oleh Fu dan Chung (2019) yang menyatakan bahwa stres oksidatif merupakan faktor yang bertanggung jawab terhadap insidensi karsinoma hepatoseluler oleh karena kemampuannya merusak struktur genetika bersama

dengan pajanan aldehida (16). Stres oksidatif yang berkepanjangan oleh pajanan FA, berhubungan dengan aktivasi mediator inflamasi *Tumor Necrosis Factor* α (TNF- α) yang diaktivasi oleh *Nuclear Factor* κ B (NF- κ B). Aktivasi yang berkepanjangan dari NF- κ B dapat menyebabkan terjadinya inflamasi selular (7). Deposit senyawa FA secara berlebih di dalam tubuh dapat memediasi terjadinya hepatotoksitas. Hal ini terjadi oleh karena keterbatasan kemampuan enzimatis hepar dalam melakukan metabolisme terhadap senyawa FA. FA akan dimetabolisme oleh hepar, melalui enzim ADH5 dan menghasilkan asam format. Asam format kemudian masuk ke *one-carbon pool* sehingga terbentuk gugus metil yang bergabung bersama asam nukleat dan protein serta diekskresikan dalam urin atau dioksidasi menjadi karbondioksida yang akan dihembuskan pada tingkat yang jauh lebih lambat dibandingkan pembentukannya dari FA (14). Enzim ADH5 memiliki kapabilitas untuk mencegah toksitas FA bersamaan dengan glutathion, tetapi hanya dalam jumlah yang terbatas (17). Waktu paruh asam format dalam plasma berkisar 1 - 6 jam (14). Ketika terdapat akumulasi berlebih senyawa FA dapat menyebabkan ketidakmampuan kapasitas enzimatis ADH5 dalam mendetoksifikasi senyawa FA, ditambah FA yang pada dasarnya memiliki sifat iritatif dan kemampuan difusi secara cepat menjadi faktor utama terjadinya sitotoksitas, tanpa terkecuali pada hepatosit (3). Ketika jaringan hepar secara persisten terpapar dalam kondisi stres oksidatif dengan kadar antioksidan yang mereduksi berkurang akan menyebabkan pertumbuhan abnormal dari hepatosit dan regenerasi hepatosit yang adekuat. Hal ini akan berakibat pada nekrosis jaringan dan terjadi infiltrat limfosit dan agen fagosit pada area perivaskular. Jaringan yang mengalami nekrotik selanjutnya akan digantikan oleh jaringan ikat fibrosa, hingga terlihat membentuk septa pada area perisinusoid. Jaringan fibrosis terbentuk dengan pola karakteristik yang berbeda sebagai konsekuensi dari kerusakan jaringan parenkim yang biasanya akan terkonsentrasi pada area sentrilobular (8,18).

Elevasi berat hepar juga berkaitan terjadinya stres oksidatif secara persisten. Dalam kondisi stres oksidatif dimana kadar antioksidan jumlahnya jauh lebih rendah dari pro-oksidan, akan menyebabkan ketidakseimbangan fungsi tubuh dalam meregulasi radikal bebas, serangan radikal, kerusakan protein, lipid, dan asam nukleat yang hasil dari aktivitas ini dapat berimplikasi pada kehilangan energi untuk metabolisme, komunikasi seluler, fungsi transport, degradasi proteosomal, dan fungsi selular lainnya, sehingga berdasar teori yang ada, akumulasi radikal bebas berlebihan dapat memungkinkan menjadi salah satu kunci dari terjadinya resistensi insulin (7,19). Jaringan yang paling berdampak pada proses metabolisme adalah hepar, otot, dan jaringan adiposa. Ketika berada dalam kondisi stres oksidatif, perubahan fungsi metabolisme akan terjadi, dengan terjadi penurunan NADH mitokondria (mNADH) dan ROS intraseluler. Secara fisiologis ketika terjadi elevasi

mediator pro-oksidan dalam darah, maka pembentukan ROS endogen dalam tubuh akan dihambat. Proses menghambat pembentukan ROS terjadi dengan cara menghambat pembentukan mNADH dengan menginhibisi fungsi insulin dan menginhibisi masuknya substrat energi (19). Hal ini akan berimplikasi pada kondisi jaringan yang mengalami kekurangan status nutrisi. Setiap sel dalam tubuh organisme multiseluler memiliki kemampuan untuk menanggapi kekurangan energi metabolisme baik dalam kondisi fisiologis atau patologis sebab memiliki sel yang terspesialisasi untuk mendeteksi kekurangan nutrisi (20). Atas dasar hal ini, tikus yang mengalami stres oksidatif akan memiliki nafsu makan yang lebih tinggi, tetapi kondisi tubuhnya tidak dapat mendistribusikan substrat glukosa secara optimal dan dapat berakhir menjadi sindroma metabolik yang dapat berimplikasi pada hepar dengan terjadinya steatosis (19). Akumulasi glukosa berlebih juga akan menyebabkan terjadinya proses glikosilasi. Proses glikosilasi diinisiasikan oleh adanya reaksi kimia antara gugus karbon dari glukosa dengan kelompok asam amino nukleofilik bebas dari protein yang akan menyebabkan pembentukan gugus fungsi Schiff yang tidak stabil. Secara fisiologis dalam tubuh, gugus fungsi Schiff yang bersifat tidak stabil akan dikonversikan menjadi produk Amadori yang lebih stabil, tetapi dalam jumlah yang terlalu banyak produk Amadori ini akan mengalami oksidasi, dehidrasi, polimerasi, dan reaksi silang menjadi *Advance Glycation End-product* (AGE) yang bersifat sangat toksik pada tingkat seluler, dan berimplikasi pada aktivasi mediator inflamasi dan pembentukan ROS (21).

Resistensi insulin terinduksi stres oksidatif bertanggung jawab atas terjadinya elevasi asam lemak bebas oleh lipolisis, elevasi level insulin, dan elevasi glukosa darah. Secara fisiologis, ketiga hal ini akan direspon oleh hepar dengan proses lipogenesis *de novo*. Akan tetapi jika berlangsung dalam rentang waktu lama, akan menyebabkan akumulasi trigliserida hepar yang berujung pada terjadinya steatosis (22). Dalam kondisi resistensi insulin dan steatosis yang berlangsung lama, dapat meningkatkan progresifitas perubahan hepar menjadi NASH seiring dengan ketidakmampuan hepar dalam menanggulangi jejas oleh karena stres oksidatif (23). Beberapa populasi dengan NASH memiliki ciri khas dalam pemeriksaan fisik dengan adanya nyeri dan sensasi tidak nyaman pada kuadran atas abdomen oleh karena terjadi penekanan pada kapsula Glisson imbas hepatomegali. Implikasi oleh adanya hepatomegali ini dapat dilihat dari elevasi berat hepar pada kelompok pasca pemberian FA hasil pada penelitian ini. Hal ini juga dijelaskan pada hasil penelitian yang dilakukan oleh Feng He *et al.* (2020). Feng He menjelaskan bahwa faktor transkripsi sebagai respon dari stres oksidatif NRF2 merupakan mediator utama dari terjadinya hepatomegali yang dapat diinduksikan oleh infeksi, hepatoma, gangguan metabolik, paparan senyawa toksik, dan kerusakan hepar terinduksi obat (24).



Gambar 4: Skema teori berdasarkan hasil pengaruh inhalasi formaldehida 10% selama 16 minggu terhadap kondisi hepar

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, inhalasi formaldehida 10% dengan dosis 20, 30, dan 40 ppm secara signifikan menyebabkan elevasi enzim ALT ($p=0.000$), elevasi berat hepar ($p=0.007$), dan kerusakan struktural hepatoseluler. Formaldehida bertanggung jawab akan terjadinya stres oksidatif dan hepatotoksisitas yang merupakan kontributor utama atas perubahan yang terjadi pada hepar. Paparan formaldehida persisten selama 16 minggu bertanggung jawab terhadap terbentuknya jaringan ikat fibrosa pada hepar.

Untuk peneliti selanjutnya dapat melakukan parameter ukur tambahan seperti ALP, GGT, 5' nucleotidase, bilirubin

direk dan total, PT, aPTT, LDH, total protein, globulin, dan albumin guna menilai fungsi hepar pasca diinduksikan formaldehida dan mempertimbangkan pengukuran jumlah asupan makanan pada tiap kelompok untuk menilai status metabolisme tubuh pasca diinduksi formaldehida.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tulpule K, Dringen R. Formaldehyde in brain: An overlooked player in neurodegeneration? *J Neurochem.* 2013;127(1):7–21.
2. Kang DS, Kim HS, Jung JH, Lee CM, Ahn YS, Seo YR. Formaldehyde exposure and leukemia risk: a comprehensive review and network-based

- toxicogenomic approach. *Genes Environ.* 2021;43(1):1–10.
3. M A, T A, R K, MR I. Effects of formaldehyde intoxication on liver of Swiss albino mice. *IOSR J Agric Vet Sci.* 2016;09(09):76–81.
 4. Tesfaye S, Hamba N, Gerbi A, Negeri Z. Occupational formaldehyde exposure linked to increased systemic health impairments and counteracting beneficial effects of selected antioxidants. *Alexandria J Med [Internet].* 2021;57(1):157–67. Available from: <https://doi.org/10.1080/20905068.2021.1926172>
 5. Driscoll TR, Carey RN, Peters S, Glass DC, Benke G, Reid A, et al. The Australian Work Exposures Study: Prevalence of Occupational Exposure to Formaldehyde. *Ann Occup Hyg.* 2015;60(1):132–8.
 6. Nakamura J, Shimomoto T, Collins LB, Holley DW, Zhang Z, Barbee JM, et al. Evidence that endogenous formaldehyde produces immunogenic and atherogenic adduct epitopes. *Sci Rep [Internet].* 2017;7(1):1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-11289-8>
 7. Susilawati NK, Yasa IWPS, Suardana W, Maliawan S, Jawi IM, Romdhoni AC, et al. Purple Sweet Potato Reduces Malondialdehyde and TNF- α , Increases p53, and Protects Histopathological Appearance in Formaldehyde-induced Nasopharyngeal Carcinoma Rats. *Indones Biomed J.* 2022;14(2):211–7.
 8. Sanchez-Valle V, C. Chavez-Tapia N, Uribe M, Mendez-Sanchez N. Role of Oxidative Stress and Molecular Changes in Liver Fibrosis: A Review. *Curr Med Chem.* 2012;19(28):4850–60.
 9. Kang DS, Lee N, Shin DY, Jang YJ, Lee SH, Lim KM, et al. Network-based integrated analysis for toxic effects of high-concentration formaldehyde inhalation exposure through the toxicogenomic approach. *Sci Rep [Internet].* 2022;12(1):1–12. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-09673-0>
 10. Adetuyi BO, Okeowo TO, Adetuyi OA, Adebisi OA, Ogunlana OO, Oretade OJ, et al. Ganoderma lucidum from red mushroom attenuates formaldehyde-induced liver damage in experimental male rat model. *Biology (Basel).* 2020;9(10):1–11.
 11. Liu W, Zeng X, Liu Y, Liu J, Li C, Chen L, et al. The Immunological Mechanisms and Immune-Based Biomarkers of Drug-Induced Liver Injury. *Front Pharmacol.* 2021;12(October):1–12.
 12. Kawanishi M, Matsuda T, Yagi T. Genotoxicity of formaldehyde: Molecular basis of DNA damage and mutation. *Front Environ Sci.* 2014;2(SEP):1–8.
 13. Reingruber H, Pontel LB. Formaldehyde metabolism and its impact on human health. *Curr Opin Toxicol.* 2018;9:28–34.
 14. Rietjens IMCM, Michael A, Bolt HM, Siméon B, Andrea H, Nils H, et al. The role of endogenous versus exogenous sources in the exposome of putative genotoxins and consequences for risk assessment. Vol. 96, *Archives of Toxicology.* Springer Berlin Heidelberg; 2022. 1297–1352 p.
 15. Aggarwal V, Tuli HS, Varol A, Thakral F, Yerer MB, Sak K, et al. Role of reactive oxygen species in cancer progression: Molecular mechanisms and recent advancements. *Biomolecules.* 2019;9(11).
 16. Fu Y, Chung F. HHS Public Access. 2019;
 17. Andrade RJ, Aithal GP, Björnsson ES, Kaplowitz N, Kullak-Ublick GA, Larrey D, et al. EASL Clinical Practice Guidelines: Drug-induced liver injury. *J Hepatol.* 2019;70(6):1222–61.
 18. Wilson MD. Fibrogenesis: Mechanisms, dynamics and clinical implications. *Iran J Pathol.* 2015;10(2):83–8.
 19. Mahjoub S, Roudsari JM. Role of oxidative stress in pathogenesis of metabolic syndrome. *Casp J Intern Med.* 2012;3(1):386–96.
 20. Caro-Maldonado A, Muoz-Pinedo C. Dying for Something to Eat: How Cells Respond to Starvation. *Open Cell Signal J.* 2011;3:42–51.
 21. Kim C-S, Park S, Kim J. The role of glycation in the pathogenesis of aging and its prevention through herbal products and physical exercise. *J Exerc Nutr Biochem.* 2017;21(3):55–61.
 22. Zarfeshani A, Ngo S, Sheppard AM. MicroRNA expression relating to dietary-induced liver steatosis and NASH. *J Clin Med.* 2015;4(11):1938–50.
 23. Kořínková L, Pražienková V, Černá L, Karnošová A, Železná B, Kuneš J, et al. Pathophysiology of NAFLD and NASH in Experimental Models: The Role of Food Intake Regulating Peptides. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020;11(November):1–19.
 24. He F, Antonucci L, Yamachika S, Zhang Z, Taniguchi K, Umemura A, et al. HHS Public Access. 2020;72(6):1182–95.
 25. Lala V, Zubair M, Minter DA. Liver Function Tests [Internet]. Nih.gov. StatPearls Publishing; 2023 [cited 2023 Aug 17]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482489/>

