

## **Bisphenol A Meningkatkan Malondialdehid dan Indeks Apoptosis Hati Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan**

*(BISPHENOL A INCREASES MALONDIALDEHYDE AND APOPTOTIC INDEX IN THE LIVER OF MALE RATS (RATTUS NORVEGICUS))*

**Risha Catra Pradhany<sup>1\*</sup>, I Nyoman Suarsana<sup>2</sup>,  
I Gusti Ayu Agung Suartini<sup>2</sup>, Ferbian Milas Siswanto<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Magister Kedokteran Hewan,

<sup>2</sup>Laboratorium Biokimia Veteriner,  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana  
Jln Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia 80234

<sup>3</sup>Program Studi Bioteknologi,  
Fakultas Ilmu Kesehatan dan Sains,  
Universitas Dhyana Pura, Jln Raya Padang Luwih Tegaljaya  
Dalung, Kuta Utara, Badung, Bali, Indonesia 80361

\*email: rishacatra@yahoo.com

### **ABSTRACT**

Bisphenol A (BPA) is a well-known toxin whose effects on reproductive toxicities. However, recent years, it has also been known BPA causes oxidative stress. Oxidative stress is one of the factors causing organ damage, this study aims to prove the effect of oral bisphenol A administration on malondialdehyde levels and apoptotic index in rats liver. This study used a posttest only control group design. Subjects were 14 male Sprague Dawley rats, male, aged 8-10 weeks, body weight  $\pm 180$  g, and in healthy condition. The control group (P0), seven rats, were given a placebo of 1 ml aquadest for 21 days; while the treatment group (P1), 7 rats, were given 400 mg/kgBW of BPA for 21 days. The results showed that the P1 group had higher hepatic MDA levels ( $3,33 \pm 0,27$  nmol/mg.prot) and significantly different ( $p < 0,001$ ) than the P0 group ( $2,67 \pm 0,14$  nmol/mg.prot). In addition, the P1 group had a higher apoptotic index ( $11,21 \pm 2,26\%$ ) and significantly different ( $p < 0,001$ ) than the P0 group ( $2,19 \pm 0,97\%$ ). Based on these results, it can be concluded that oral administration of bisphenol A increases malondialdehyde and apoptotic index in the liver of male Sprague dawley rats.

Keywords: bisphenol A; malondialdehyde; apoptotic index; liver.

### **ABSTRAK**

Bisphenol-A (BPA) merupakan toksikan yang diketahui dampaknya terhadap *reproductive toxicities*. Namun, beberapa tahun belakangan ini, diketahui pula bahwa BPA menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan salah satu faktor penyebab kerusakan organ. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek pemberian BPA oral terhadap kadar malondialdehid dan indeks apoptosis pada hati tikus. Penelitian ini menggunakan *posttest only control group design*. Subjek adalah 14 ekor tikus putih jantan galur *Sprague dawley*, umur 8-10 minggu, bobot badan berkisar 180 g, dan dalam keadaan sehat. Kelompok kontrol (P0), tujuh ekor tikus, diberikan plasebo berupa 1 mL aquadest selama 21 hari; sedangkan kelompok perlakuan (P1), tujuh ekor tikus, diberikan 400 mg/kgBB tikus BPA selama 21 hari. Hasil menunjukkan bahwa kelompok P1 memiliki kadar MDA hepatik yang lebih tinggi ( $3,33 \pm 0,27$  nmol/mg.prot) dan berbeda nyata ( $p < 0,001$ ) dibandingkan kelompok P0 ( $2,67 \pm 0,14$  nmol/mg.prot). Selain itu, kelompok P1 memiliki indeks apoptosis yang lebih tinggi ( $11,21 \pm 2,26\%$ ) dan berbeda nyata ( $p < 0,001$ ) dibandingkan kelompok P0 ( $2,19 \pm 0,97\%$ ). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa pemberian BPA oral meningkatkan malondialdehid dan indeks apoptosis pada hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan.

Kata-kata kunci: bisphenol-A (BPA); malondialdehid; indeks apoptosis; hati.

## PENDAHULUAN

Bisphenol-A (BPA) atau *2,2-Bis(4-hydroxyphenyl) propane, 4,4'-Isopropylidenediphenol* banyak terdapat dalam produk rumah tangga sebagai wadah makanan yang terbuat dari plastik. Senyawa BPA yang termakan akan terakumulasi dalam tubuh dan menimbulkan efek yang tidak diinginkan. Berdasarkan penelitian Nakamura *et al.* (2010), BPA menyebabkan *reproductive toxicities* yang menyebabkan penurunan kadar testosteron dan *Luteinizing Hormone* (LH) pada tikus jantan. Pemberian BPA 200 mg/kg BPA menurunkan jumlah sel Leydig pada testis tikus jantan. Studi menunjukkan bahwa paparan BPA dalam jangka waktu yang lama berhubungan dengan peningkatan penyakit degeneratif (Tan *et al.*, 2015).

Bisphenol-A memiliki struktur kimia yang serupa dengan hormon estrogen sehingga jika masuk ke dalam tubuh dapat meniru kerja hormon estrogen (Kim *et al.*, 2020). Bisphenol-A merupakan salah satu senyawa *endocrine disruptors* yang dapat mengganggu biosintesis, sekresi, kerja atau metabolisme hormon endogen (Sipahutar *et al.*, 2007). Selain sebagai *endocrine disruptors*, disebutkan bahwa BPA juga menyebabkan peningkatan senyawa radikal di dalam tubuh dan menginduksi terjadinya stres oksidatif (Wisesa *et al.*, 2020).

Asahi *et al.* (2010) dan Moon *et al.* (2012) melaporkan bahwa BPA meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS), dan menyebabkan disfungsi mitokondria. Stres oksidatif dapat merusak molekul biologi yang terdapat di dalam tubuh seperti lipid, protein, dan *deoxyribonucleic acid* (DNA) (Siswanto *et al.*, 2015). Jika hal ini terjadi dalam waktu lama, maka terjadi akumulasi kerusakan oksidatif di dalam sel dan jaringan sehingga menyebabkan jaringan tersebut kehilangan fungsinya (Pangkahila *et al.*, 2019).

Kondisi stres oksidatif dapat dideteksi dengan mengukur *biomarker* kerusakan jaringan. Salah satu indikator kerusakan jaringan adalah tingginya kadar malondialdehid (MDA) (Nyandra *et al.*, 2018; Tarnajaya *et al.*, 2018). Malondialdehid merupakan produk akhir dari oksidasi asam lemak tak jenuh oleh radikal bebas dan merupakan metabolit komponen sel yang dihasilkan oleh radikal bebas. Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel. Efek negatif senyawa radikal maupun metabolit elektron

dapat meningkatkan MDA (Dahake *et al.*, 2016).

Penelitian terdahulu membuktikan bahwa BPA dapat menyebabkan stres oksidatif yang ditandai dengan meningkatnya F2 Isoprostano dan menurunnya kadar superoksida dismutase/SOD (Sulaiman *et al.*, 2017). Stres oksidatif dapat menginduksi terjadinya kerusakan jaringan melalui induksi apoptosis. Nyandra *et al.* (2018) dan Kartiko *et al.* (2018) melaporkan bahwa radikal bebas menginduksi apoptosis jalur p53-independent yaitu ketidakseimbangan *growth hormone/GH*, induksi aktivitas protease sistemik yang dimediasi oleh radikal bebas. Stres oksidatif yang diinduksi paraquat juga dilaporkan menyebabkan apoptosis pada kultur sel hepatosit secara *in vitro* (Ishihara, 2006).

Paparan BPA dalam jangka waktu yang lama menyebabkan akumulasi BPA dalam jaringan. Terdapat beberapa studi klinis pada manusia yang menunjukkan bahwa paparan BPA dalam jangka waktu lama dapat meningkatkan kadar BPA yang terakumulasi dalam jaringan. Studi yang dilakukan terhadap 20 wanita dewasa di Spanyol menunjukkan bahwa terdapat residu BPA pada sampel jaringan lemak hasil biopsi dengan konsentrasi antara 1,8 sampai 12,02 ng/g (Fernandez *et al.*, 2007). Penelitian lain juga menunjukkan paparan BPA dapat meningkatkan akumulasinya pada jaringan lemak/adipose (Nunez *et al.*, 2001). Selain menyebabkan akumulasi BPA di dalam tubuh, BPA juga dapat diturunkan dari induk kepada fetus. Penelitian membuktikan bahwa paparan BPA pada ibu menyebabkan akumulasi BPA pada plasma maternal hingga 18.9 ng/mL, dan pada plasma fetus dapat dideteksi BPA mencapai 9,2 ng/mL dan pada jaringan fetus mencapai 104,9 ng/g (Schönfelder *et al.*, 2002).

Namun, hingga saat ini belum diketahui pengaruh BPA terhadap jaringan hati, khususnya produksi MDA dan indeks apoptosis. Penelitian ini bertujuan mengetahui apakah pemberian BPA dapat meningkatkan kadar MDA hati dan meningkatkan indeks apoptosis sel hepatosit pada tikus putih.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan desain eksperimen sederhana (*posttest only control group design*). Subjek yang digunakan adalah tikus putih jantan galur *Sprague dawley*, umur 8-10 minggu, bobot

badan sekitar± 180 g, dan sehat. Besaran sampel dihitung dengan menggunakan rumus Pocock (2008) yang didasarkan atas penelitian pengaruh pemberian BPA 400 mg/kgBB terhadap kadar SOD (Sulaiman *et al.*, 2017), didapatkan jumlah minimum sampel yang diperlukan adalah tujuh ekor per kelompok atau keseluruhan 14 ekor. Sebelum penelitian dimulai, tikus diadaptasi selama satu minggu di tempat penelitian untuk penyesuaian dengan lingkungan. Sampel tikus kemudian dibagi menjadi dua kelompok, kelompok pertama (kelompok kontrol/P0) diberikan aquades dan kelompok kedua (kelompok perlakuan/P1) diberikan Bisphenol A (Wako®) dosis 400 mg/kgBB secara oral. Setelah 21 hari perlakuan, keseluruhan kelompok tikus dikorbankan nyawanya atau dieuthanasi dan dilakukan nekropsi untuk diambil organ hatinya.

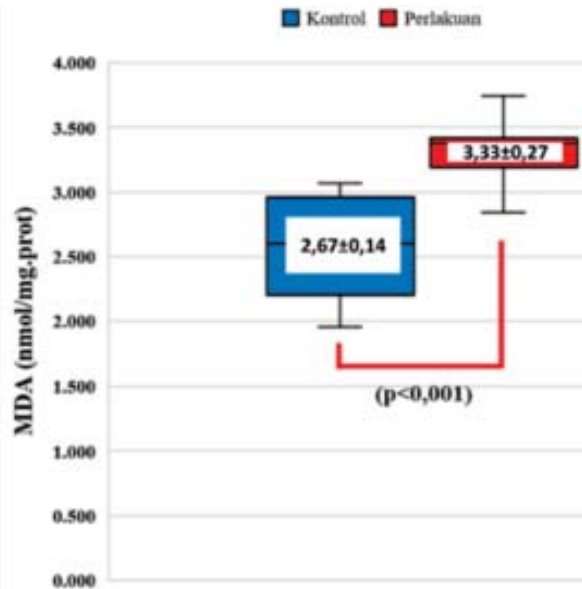
Organ hati dari masing-masing tikus dibagi menjadi dua bagian. Satu bagian untuk pemeriksaan MDA dan satu bagian untuk pemeriksaan apoptosis. Untuk pemeriksaan MDA, hati dicuci dengan *posphat buffer saline* (PBS), kemudian dikemas dengan aluminium foil dan disimpan di dalam freezer (-20°C). Untuk pemeriksaan apoptosis, hati difiksasi dengan medium transport *neutral buffer formalin* 10%. Pemeriksaan kadar MDA dilakukan dengan menggunakan metode *enzyme linked immunosorbent assay*/ELISA dengan menggunakan *Rat Malondialdehyde ELISA KIT* (Bioassay Technology Laboratory Catalog No. E0156Ra). Indeks apoptosis diperiksa dengan metode pemeriksaan pada sediaan histopatologi yang diwarnai dengan pewarnaan khusus TUNEL.

Data yang diperoleh pada penelitian ini dianalisis dengan menggunakan uji statistika *independent sample ttest*. Data disajikan dalam bentuk grafik yang menunjukkan rata-rata± simpangan baku. Data diolah dengan menggunakan SPSS *Statistic* 23.0

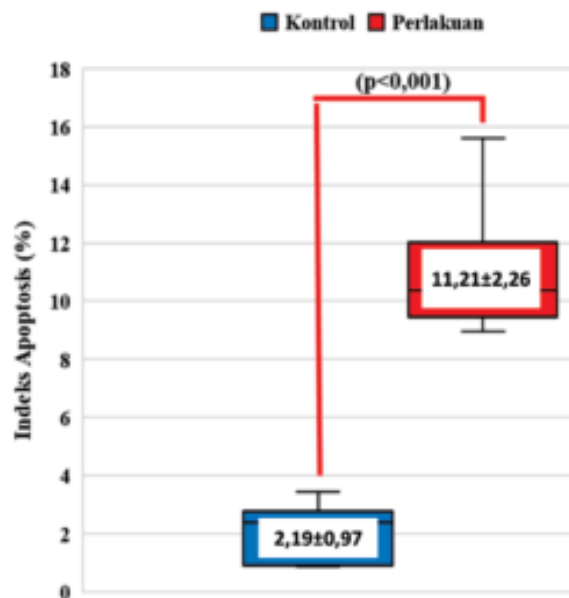
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil menunjukkan bahwa tikus kelompok P1 memiliki kadar MDA hepatik yang lebih tinggi (3,33 ± 0,27 nmol/mg.prot) dan berbeda nyata ( $p<0,001$ ) dibandingkan kelompok P0 (2,67 ± 0,14 nmol/mg.prot) (Gambar 1). Selain itu, kelompok P1 memiliki indeks apoptosis yang lebih tinggi (11,21 ± 2,26%) dan berbeda nyata ( $p<0,001$ ) dibandingkan kelompok P0 (2,19 ± 0,97%) (Gambar 2).

Selama beberapa dekade terakhir telah terjadi peningkatan kesadaran akan dampak lingkungan yang mengandung bahan pencemar kimia. Zat kimia ini mengganggu keseimbangan endokrin tubuh yang menyebabkan efek



Gambar 1. Perbandingan kuantitatif kadar malondialdehid/MDA antar kelompok. *p* (Sig.) dihitung dengan menggunakan *independent t-test*.



Gambar 2. Perbandingan kuantitatif indeks apoptosis antar kelompok *p* (Sig.) dihitung dengan menggunakan *independent t-test*.

merusak bagi banyak organ (Sikka dan Wang, 2008). Bisphenol A, monomer estrogenik, digunakan dalam jumlah yang sangat besar setiap tahun (Liao dan Kannan, 2011).

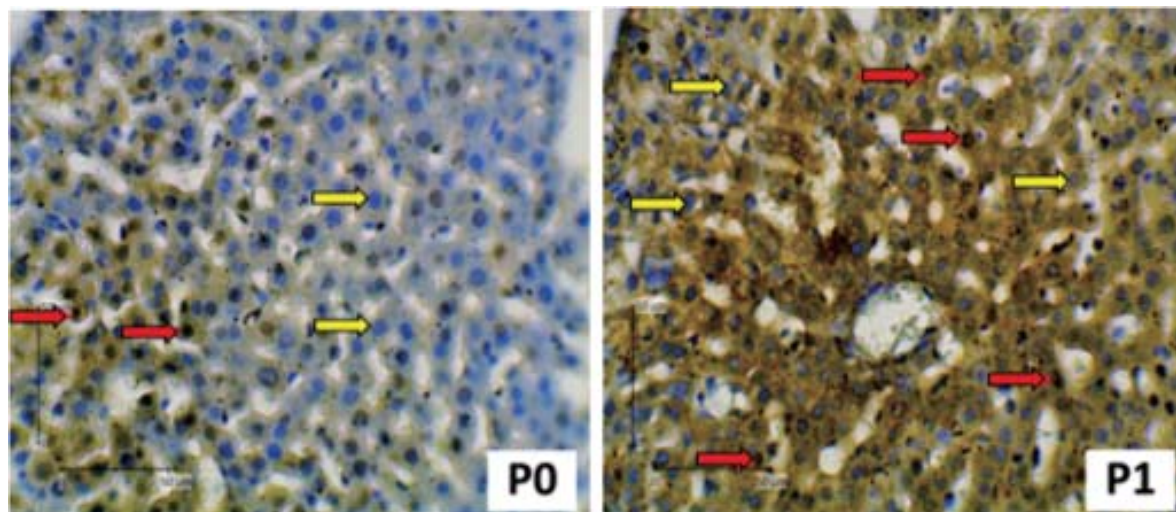
Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok perlakuan P1 memiliki kadar MDA hepatic yang lebih tinggi ( $3,33 \pm 0,27$  nmol/mg.prot) dan berbeda nyata ( $p < 0,001$ ) dibandingkan kelompok kontrol P0 ( $2,67 \pm 0,14$  nmol/mg.prot). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian BPA dosis 400 mg/kgBB menyebabkan stres oksidatif di jaringan hati, sehingga MDA sebagai produk *biomarker* stres oksidatif meningkat. Pada kelompok P1 menghasilkan indeks apoptosis yang lebih tinggi ( $11,21 \pm 2,26\%$ ) dan berbeda nyata ( $p < 0,001$ ) dibandingkan kelompok P0 ( $2,19 \pm 0,97\%$ ).

Toksikitas BPA selama ini hanya difokuskan efeknya pada sistem reproduksi (Chitra *et al.*, 2003; Aydođan dan Barlas, 2006). Namun, penelitian terbaru mengemukakan bahwa BPA juga menyebabkan stres oksidatif, dan efek stres oksidatif BPA ini bersifat independen terhadap efek toksiknya pada sistem reproduksi (Wisesa *et al.*, 2020). Bisphenol A juga menyebabkan stres oksidatif pada organ vital manusia (Asahi *et al.*, 2010; Moon *et al.*, 2012). Peningkatan radikal bebas akibat BPA hingga saat ini belum diketahui mekanismenya. Namun, hasil penelitian jelas menunjukkan bahwa BPA menyebabkan peningkatan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan peroksidasi lipid disertai dengan penurunan aktivitas enzim antioksidan,

yaitu katalase (CAT), glutation (GSH-Px), dan superoksida dismutase (SOD) (Kourouma *et al.*, 2015). Hasil tersebut sejalan dengan laporan Wu *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa penurunan signifikan terjadi pada aktivitas GSH dan SOD pada kelompok yang diberikan BPA. Nampaknya, stres oksidatif akibat BPA diakibatkan oleh penurunan ekspresi gen mitokondria seperti *cyclooxygenase* (COX), *NADH-ubiquinol oxidoreductase* (ND), *cytochrome b* (CYTB) dan ATP (Wang *et al.*, 2019).

Peningkatan peroksidasi lipid pada tikus perlakuan mengindikasikan terjadi peningkatan produksi radikal bebas dan penurunan status antioksidan. Penurunan aktivitas enzim antioksidan menyebabkan kerusakan oksidatif organ hati, karena CAT dan GSH-Px telah dianggap sebagai *scavenger* utama  $H_2O_2$  (Vernet *et al.*, 2004), sedangkan SOD dapat mengkatalis dekomposisi radikal superoksida untuk menghasilkan  $H_2O_2$  (Yulyani *et al.*, 2017). Namun, dengan tidak adanya aktivitas CAT atau GSH-Px yang memadai untuk mendegradasi  $H_2O_2$ , maka lebih banyak  $H_2O_2$  dikonversi menjadi radikal hidroksil toksik dan dapat berkontribusi pada stres oksidatif yang diakibatkan oleh BPA.

Malondialdehid terbentuk dari kerusakan membran sel akibat adanya ROS pada fase stres oksidatif. Rangkaian proses peroksidasi yang diawali dengan terjadinya fragmentasi PUFA dapat menghasilkan berbagai bentuk *aldehid*,



Gambar 3. Sediaan histopatologis jaringan hati (TUNEL; pembesaran 400x). Hepatosit apoptotik terwarnai coklat pada nucleus (panah merah), sedangkan sel non-apoptotik terwarnai biru (panah kuning). P0 adalah kelompok kontrol dengan plasebo; P1 adalah kelompok perlakuan dengan BPA dosis 400 mg/kgBB



*alkena* dan *hidroalkena* seperti malondialdehid dan *4-hidroksio-2nonenal*. Malondialdehid sebagian besar terbentuk dari peroksi PUFA yang mengandung lebih dari satu ikatan ganda, seperti asam linoleat, arachidonat dan dokosaheksanoat, meskipun sebagian terbentuk pada proses *enzymatic metabolism eikosanoid*. Status antioksidan yang tinggi biasanya diikuti oleh penurunan kadar MDA (Harris dan Atkinson, 2015).

Metabolisme BPA yang paling utama terjadi di hati melalui glukuronidasi oleh mikrosom hati, dan glukuronidasi ini dimediasi oleh UGT2B1, salah satu isoform dari UDP-glukuronosiltransferase dalam hati tikus (Yokota *et al.*, 1999). Glukuronidasi adalah jalur metabolisme utama dari bahan kimia. Setelah glukuronidasi, glukuronida yang dihasilkan diekskresikan terutama ke dalam empedu (Inoue *et al.*, 2005). Konjugat ekskretoris utama dari metabolisme BPA ini adalah BPA-glukuronida dan bukan sulfat, karena sulfat tidak terdeteksi dalam urin tikus setelah pemberian oral BPA (Knaak dan Sullivan, 1996). Metabolit BPA yang dihasilkan dari metabolisme mikrosomal Cytochrome P450s menunjukkan peningkatan aktivitas estrogenik dan menyebabkan kerusakan DNA (Atkinson dan Roy, 2005).

Hasil penelitian membuktikan terjadi apoptosis pada jaringan hati dan kaitannya dengan stres oksidatif akibat paparan BPA. Senada dengan hasil penelitian Lee *et al.* (2014) yang menunjukkan bahwa konsentrasi BPA urin berkaitan dengan kelainan fungsi hati pada manusia. Sebuah studi *cross-sectional* pada 1455 orang Amerika yang terpapar BPA menunjukkan hubungan yang signifikan secara statistika antara konsentrasi BPA yang lebih tinggi dan konsentrasi abnormal dari enzim hati, yaitu,  $\alpha$ -glutamil transferase ( $\alpha$ -GT), alkali fosfat (ALP), dan laktat dehidrogenase (LDH) (Lang *et al.*, 2008).

Penelitian menunjukkan bahwa ada tiga jalur berbeda dari apoptosis yang diinduksi BPA. Jalur pensinyalan DNA *damage response* (DDR) sangat penting untuk kematian sel germinal yang diinduksi BPA, jalur pensinyalan ERK atau JNK MAPK terlibat dalam apoptosis yang diinduksi BPA, dan jalur pensinyalan IGF-1 diperlukan untuk kematian sel germinal yang diinduksi BPA (Wang *et al.*, 2015). Pada jalur DDR, baik protein caspase CED-3 dan protein Apaf-1 CED-4 diperlukan untuk apoptosis yang diinduksi BPA. Apoptosis dihambat oleh ced-9, dan diaktifkan oleh egl-1. Protein *checkpoint*

HUS-1 memberikan efek proapoptosis, dan p53 juga berpartisipasi dalam apoptosis yang diinduksi oleh BPA. Pada jalur IGF-1 dan protein targetnya DAF-16/FOXO, memainkan peran penting dalam apoptosis yang diinduksi BPA. DAF-2/IGF-1R dan AKT-1/PKB mengatur apoptosis secara negatif melalui induksi DAF-16 (Wang *et al.*, 2015).

Bisphenol A telah dilaporkan menginduksi autofagi dan apoptosis pada sel Sertoli dan Leyding pada testis tikus dan kematian sel dalam sel Sertoli pada tikus jantan. Dilaporkan bahwa BPA dapat menginduksi aktivasi protein kinase A (PKA) dan Akt dalam sel Leydig testis (Kim *et al.*, 2010). Dalam sel granulosa, BPA ditunjukkan untuk menginduksi *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR $\gamma$ ) dan menurunkan regulasi steroidogenesis dan proliferasi yang dirangsang oleh FSH melalui aktivasi faktor transkripsi GATA (Kwintkiewicz *et al.*, 2010). Selain itu, Jalur Akt ditunjukkan terlibat dalam induksi apoptosis sel sertoli tikus yang diinduksi BPA. Paparan terhadap BPA dapat menginduksi disfungsi sekresi insulin dan meningkatkan apoptosis pada sel-sel insulinoma tikus melalui kerusakan mitokondria (Wang *et al.*, 2015).

Penelitian *in vitro* mengindikasikan bahwa BPA dapat menyebabkan induksi aktivasi adenilat kinase, ekspresi gen TNF- $\alpha$  (Kovacic, 2010), dan disregulasi homeostasis Ca<sup>2+</sup> (Lee *et al.*, 2008). Jalur-jalur tersebut berkaitan dengan induksi apoptosis jalur intrinsik yaitu menginduksi aktivasi p53, inhibisi p21, kemudian menginduksi Bax, menginhibisi BCL2, dan merangsang siktrokrom C untuk keluar dari mitokondria sehingga terbentuk apoptosome yang mengaktifkan caspase eksekutor (Kartiko *et al.*, 2018). Namun, mekanisme efek samping BPA pada kelainan fungsi hati dan apoptosis belum sepenuhnya dipahami.

## SIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa pemberian BPA dapat meningkatkan kadar MDA dan indeks apoptosis hepatosit.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui mekanisme apoptosis yang

diakibatkan oleh BPA melibatkan jalur intrinsik, ekstrinsik atau jalur apoptosis alternatif.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Tim penulis mengucapkan terima kasih kepada pimpinan dan staf Laboratorium Biomedik Terpadu, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana yang telah memberikan izin atas penggunaan fasilitas laboratorium selama penelitian.

### DAFTAR PUSTAKA

- Asahi J, Kamo H, Baba R, Doi Y, Yamashita A. 2010. Bisphenol A induces endoplasmic reticulum stress-associated apoptosis in mouse non-parenchymal hepatocytes. *Life Sci* 87: 431-438.
- Atkinson A, Roy D. 1995. In vitro conversion of environmental estrogenic chemical bisphenol A to DNA binding metabolite(s). *Biochemical and Biophysical Research Communication* 210(2): 424-433.
- Aydođan M, Barlas N. 2006. Effects of maternal 4-tert-octylphenol exposure on the reproductive tract of male rats at adulthood. *Reproductive Toxicology* 22(3): 455-460.
- Chitra KC, Latchoumycandane C, Mathur PP. 2003. Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. *Toxicology* 185(1): 119-127.
- Dahake HS, Warade J, Kansara GS, Pawade Y, Ghangle S. 2016. Study of malondialdehyde as an oxidative stress marker in schizophrenia. *Int J Res Med Sci* 4(11): 4730-4734.
- Fernandez MF, Arrebola JP, Taoufiki J, Navalon A, Ballesteros O, Pulgar R. 2007. Bisphenol-A and chlorinated derivatives in adipose tissue of women. *Reprod Toxicol* 24: 259-264.
- Harris DJ, Atkinson G. 2015. Ethical Standarts in Sport and Exercise Science Research: 2016 Update. *International Journal of Sports Medicine* 36(14): 1121-1124.
- Inoue H, Tsuruta A, Kudo S. 2005. Bisphenol a glucuronidation and excretion in liver of pregnant and nonpregnant female rats. *Drug Metabolism and Disposition* 33(1): 55-59.
- Ishihara Y. 2006. Mechanism of Hepatocyte Apoptosis under Sustained Endogenous Oxidative Stress. (*Doctor Thesis*). Osaka. Osaka University.
- Kartiko BH, Siswanto FM. 2018. Overtraining elevates serum protease level, increases renal p16INK4 $\alpha$  gene expression and induces apoptosis in rat kidney. *Sport Sci Health* 14(2): 331-337.
- Kim JJ, Kumar S, Kumar V, Lee YM, Kim YS, Kumar V. 2020. Bisphenols as a Legacy Pollutant, and Their Effects on Organ Vulnerability. *Int J Environ Res Public Health* 17(1): 112.
- Kim JY, Han EH, Kim HG, Oh KN, Kim SK, Lee KY, Jeong HG. 2010. Bisphenol A-induced aromatase activation is mediated by cyclooxygenase-2 up-regulation in rat testicular Leydig cells. *Toxicol Lett* 193(2): 200-208.
- Knaak JB, Sullivan LJ. 1996. Metabolism of bisphenol A in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology* 8(2): 175-184.
- Kourouma A, Quan C, Duan P. 2015. Bisphenol A Induces Apoptosis in Liver Cells through Induction of ROS. *Advances in Toxicology*, vol. 2015, Article ID 901983, 10 pages.
- Kovacic P. 2010. How safe is bisphenol A? Fundamentals of toxicity: metabolism, electron transfer and oxidative stress. *Medical Hypotheses* 75(1): 1-4.
- Kwintkiewicz J, Nishi Y, Yanase T, Giudice LC. 2010. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma mediates bisphenol A inhibition of FSH-stimulated IGF-1, aromatase, and estradiol in human granulosa cells. *Environ Health Perspect* 118(3): 400-406.
- Lang IA, Galloway TS, Scarlett A, Henley WE, Depledge M, Wallace RB, Melzer D. 2008. Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. *JAMA* 300(11): 1303-10.
- Lee JH, Li YC, Ip SP. 2008. The role of Ca<sup>2+</sup> in baicalein-induced apoptosis in human breast MDA-MB-231 cancer cells through mitochondria- and caspase-3-dependent

- pathway. *Anticancer Research* 28(3): 1701-1711.
- Lee MR, Park H, Bae S. 2014. Urinary bisphenol A concentrations are associated with abnormal liver function in the elderly: a Repeated Panel Study. *Journal of Epidemiology and Community Health* 68(4): 312-317.
- Liao C, Kannan K. 2011. Widespread occurrence of bisphenol A in paper and paper products: implications for human exposure. *Environ Sci Technol* 45: 9372-9379.
- Moon MK, Kim MJ, Jung IK, Koo YD, Ann HY, Lee KJ, Kim SH, Yoon YC, Cho BJ, Park KS, Jang HC, Park YJ. 2012. Bisphenol A impairs mitochondrial function in the liver at doses below the no observed adverse effect level. *J Korean Med Sci* 27: 644-652.
- Nakamura D, Yanagiba Y, Duan Z, Ito Y, Okamura A, Asaeda N, Tagawa Y, Li C, Taya K, Zhang SY, Naito H, Ramdhan DH, Kamijima M, Nakajima T. 2010. Bisphenol A may cause testosterone reduction by adversely affecting both testis and pituitary systems similar to estradiol. *Toxicol Lett* 194(1-2): 16-25.
- Nunez AA, Kannan K, Giesy JP, Fang J, Clemens LG. 2001. Effects of bisphenol A on energy balance and accumulation in brown adipose tissue in rats. *Chemosphere* 42(8): 917-922.
- Nyandra M, Kartiko BH, Arunngam P, Pangkahila A, Siswanto FM. 2018. Overtraining induces oxidative stress-mediated renal damage in male Wistar rats. *Transylvanian Review* 26(28): 7659-7666.
- Pangkahila E, Linawati NM, Sugiritama IW, Siswanto FM. 2019. Pelatihan Fisik Berlebih Meningkatkan Indeks Apoptosis pada Hepatosit Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan. *Jurnal Biomedik* 11(3): 144-149.
- Pocock SJ. 2008. *The Size of a Clinical Trial in: Clinical Trial, a practical approach*. Chichester. John Wiley and Sons.
- Schönfelder G, Wittfoht W, Hopp H, Talsness CE, Paul M, Chahoud I. 2002. Parent bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placental unit. *Environmental Health Perspectives* 110(11): 703-707.
- Sikka SC, Wang R. 2008. Endocrine disruptors and estrogenic effects on male reproductive axis. *Asian J Androl* 10: 134-145.
- Sipahutar H, Gaol A, Silalahi A. 2007. Akselearsi pencapaian pubertas mencit setelah pendedahan xenoestrogen bisphenol A (BPA) selama dua generasi berturut-turut. *J Sains MIPA* 89(2): 95-105.
- Siswanto FM, Yenniastuti B, Putra TA, Kardena IM. 2015. Aktivitas Fisik Maksimal Akut (Acute Overtraining) Menyebabkan Kerusakan Sel â Pankreas Mencit. *Jurnal Biomedik* 7(2): 125-130.
- Sulaiman Y, Aman IGM, Pangkahila W. 2017. Pengaruh pemberian bisphenol A (BPA) oral menurunkan kadar superoksida dismutase dan meningkatkan kadar f2-isoprostan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley*. *Jurnal Biomedik* 9(3): 152-158.
- Tan L, Wang S, Wang Y, He M, Liu D. 2015. Bisphenol a exposure accelerated the aging process in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Toxicology Letters* 235: 75-83.
- Tarnajaya K, Pangkahila A, Pangkahila W, Siswanto FM. 2018. Pemberian ekstrak daun cincau (*Mesona palustris* BL) meningkatkan kadar Superoksida Dismutase (SOD) tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi latihan fisik berlebih. *Jurnal Biomedik* 10(1): 9-15.
- Vernet P, Aitken RJ, Drevet JR. 2004. Antioxidant strategies in the epididymis. *Molecular and Cellular Endocrinology* 216(1): 31-39.
- Wang C, Fu W, Quan C, Yan M, Liu C, Qi S, Yang K. 2015. The role of Pten/Akt signaling pathway involved in BPA-induced apoptosis of rat Sertoli cells. *Environ Toxicol* 30(7): 793-802.
- Wang K, Zhao Z, Ji W. 2019. Bisphenol A induces apoptosis, oxidative stress and inflammatory response in colon and liver of mice in a mitochondria-dependent manner. *Biomed Pharmacother* 117: 109182.
- Wisesa IBGR, Sukoco H, Siswanto FM. 2020. The Oxidant Effect of Bisphenol A (BPA) Can be Decoupled from its Endocrine Disruptor Property. *Journal of Physics: Conference Series* 1430, 012007.

- Wu M, Xu H, Shen Y, Qiu W, Yang M. 2011. Oxidative stress in zebrafish embryos induced by short-term exposure to bisphenol A, nonylphenol, and their mixture. *Environmental Toxicology and Chemistry* 30(10): 2335-2341.
- Yokota H, Iwano H, Endo M. 1999. Glucuronidation of the environmental oestrogen bisphenol A by an isoform of UDP-glucuronosyltransferase, UGT2B1, in the rat liver. *Biochemical Journal* 340(2): 405-409.
- Yulyani, Aman IGM, Pangkahila W, Siswanto FM. 2017. Pemberian Resveratrol Oral Mencegah Peningkatan F2-Isoprostan Urin Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Jantan yang Dipapar Tartrazine. *Jurnal Biomedik* 9(1): 24-29.