

METABOLISM OF XENOBIOTIC COMPOUNDS INCREASES FREE RADICAL PRODUCTION AND REDUCES ENDOGENOUS ANTIOXIDANT MECHANISMS

I Putu Bayu Agus Saputra^{1*}, Ni Made Wiasty Sukanty², I Putu Dedy Arjita¹,
Musyarrafah Musyarrafah, I Gede Angga Adnyana¹

¹Program Studi Kedokteran, Fakultas kedokteran Universitas Islam Al-Azhar

²Program Studi Gizi, Universitas Bumigora

Jl. Unizar No.20, Turida, Telepon : (0370) 7562077

*corresponding author, e-mail: Bayuagus891@gmail.com

Article history

Posted, Dec 29th, 2024

Reviewed, Dec 29th, 2023

Received, Oct 23th, 2023

Abstract

Xenobiotic compounds are foreign substances that enter the body. These substances include drugs, insecticides, toluene, chloroform, formalin, and others that can enter by inhalation, through skin exposure or swallowed together with food. The use of xenobiotic compounds is increasing every year along with the development of the industrial sector, which impacts greater exposure for workers. Xenobiotic compounds that enter the body will cause harm to the body, and they will be detoxified in the liver. Xenobiotic compounds can bind to cytochrome p450 isoform 2E1, which will cause the formation of free radicals. A body exposed to xenobiotic compounds can respond by reducing free radicals using endogenous antioxidants. They are Superoxide Dismutase (SOD) and Glutathione Peroxidase (GPX). If the amount of free radicals exposure is too large, oxidative stress will occur. It triggers liver cell damage and release of alanine aminotransferase (ALT) and Aspartate Aminotransferase (AST) into the blood vessels, which causes an increase in these enzymes in the blood..

Keywords: Xenobiotik, Chlorofoam, Formalin, SOD, GPX, AST, ALT

1. Introduction

Pertumbuhan industri berdampak baik bagi manusia akan tetapi juga dapat menyebabkan kerugian, peningkatan produksi dapat menyebabkan Polusi udara yang dapat mempengaruhi kehidupan manusia. Senyawa xenobiotik merupakan zat asing yang tidak dibutuhkan oleh tubuh yang masuk ke dalam tubuh menyebabkan

respon dari tubuh untuk mengeluarkan senyawa asing tersebut dengan cara mendetoksifikasi untuk menetralkan sifat senyawa tersebut terlebih dahulu (1). Senyawa xenobiotik memberikan efek samping berupa gangguan kesehatan bagi orang yang terpapar karena senyawa xenobiotik dapat mudah menguap dan dapat terhirup serta mampu melewati sawar darah

otak, neurotoksisitas, dan nefrotoksisitas (2) (3).

Penggunaan senyawa berbasis senyawa xenobiotik semakin tahun semakin meningkat, secara global produksi benzen 37 juta ton pertahun. Berdasarkan badan pusat statistik tahun 2018, kebutuhan impor benzen indonesia meningkat 4% setiap tahunnya dan diperkirakan pada tahun 2024 menjadi 525.305,60 ton (4). Berdasarkan data penggunaan toluena dalam bidang industri ditemukan 11 bengkel pengecatan di Semarang, bahwa 30% pekerja mengalami gangguan kesehatan dan pekerja industri sepatu di Ciomas dan Tasikmalaya, Jawa Barat mengalami gangguan kesehatan akibat paparan zat toluena (5).

Senyawa xenobiotik seperti toluena, chlorofoam, dan masuk kedalam tubuh melalui inhalasi, paparan kulit, dan oral. Toluena masuk melewati oral atau mulut akan diabsorbsi melalui usus, toluena akan masuk ke dalam darah, diedarkan keseluruh tubuh dan akan di detoksifikasi didalam hati (5). Paparan kronis toluena dikaitkan dengan peningkatan stres oksidatif, apoptosis, dan peradangan akibat toksisitas toluena. Paparan toluena dilaporkan dapat meningkatkan resiko peningkatan penyakit keganasan hematologi dan dapat menunjukkan efek genotoksik (6).

Toluena didalam tubuh dapat menyebabkan reaksi oksidasi sehingga dapat menyebabkan donor elektron ke oksigen dan

terjadi pembentukan radikal anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$) Skema transfer elektron dapat dilihat pada gambar 1 (7).

Stres oksidatif dapat menyebabkan apoptosis pada sel hati (8). Sel hati yang rusak dapat menyebabkan keluarnya enzim alanin aminotransferase (ALT) dan aspartat aminotransferase (AST) ke peredaran darah sehingga kadar ALT dan AST pada darah terdeteksi meningkat (9). Pengukuran aktivitas enzim AST dan ALT di serum, umumnya diminta sebagai bagian dari tes fungsi hati untuk menilai adanya penyakit hati (10).

2. Enzim Sitokrom P450 terhadap senyawa xenobiotik

Sitokrom P450 merupakan superfamily dari enzim *haem-thioate*. Struktur sitokrom p450 dapat mengikat oksigen, substrat berbasis karbon, kelompok heme dan komponen redoks seperti sulfur-besi. Sitokrom 450 dapat berikatan pada membran fosfolipid retikulum endoplasma halus (11).

Enzim sitokrom p450 isoform 2E1 merupakan sumber utama radikal bebas dari reaksi oksidasi. Enzim ini mengkatalis reaksi dimana elektron tunggal di transfer ke oksigen (O_2) sehingga dapat menyebabkan terbentuknya radikal anion superoksida (7). Induksi enzim sitokrom p450 dapat disebabkan oleh alkohol, obat – obatan, dan racun yang dapat meningkatkan kerusakan sel. Sebagai contoh toluena yang merupakan

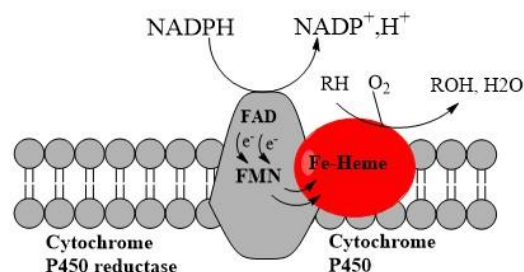
substrat dari enzim sitokrom p450 2E1 dapat menyebabkan terbentuknya radikal anion superoksida (7).

Sitokrom p450 isoform 2E1 diekspresikan di hati dan terdapat di organ lain seperti otak dan usus. CYP2E1 terdapat didalam retikulum endoplasma (RE) dan pada mitokondria. CYP2E1 memetabolisme berbagai zat termasuk beberapa obat, asam lemak tak jenuh ganda, etanol, asetaminofen dan pelarut organik seperti toluena. Beberapa faktor seperti insulin, aseton, leptin, adiponektin dan sitokin mengatur CYP2E1 mRNA dan ekspresi protein (12).

Selama siklus katalitik CYP2E1 dapat menghasilkan ROS yang dapat menyebabkan peroksidasi lipid, cedera sel, dan kerusakan mitokondria. Beberapa penelitian pada induksi alkohol dapat menyebabkan peningkatan CYP2E1 hal ini disebabkan oleh penurunan degradasi protein dan peningkatan stabilitas protein CYP2E1 (12).

Sitokrom p450 isoform 2E1 merupakan sitokrom yang dapat mengikat benzen dan etanol, sitokrom ini dapat mengikat toluena untuk dilakukan metabolisme xenobiotik, toluena akan diikat dan akan diubah menjadi benzyl alkohol (11). Berikatannya toluena dengan CYP2E1 akan menyebabkan toluena menjadi senyawa benzyl alkohol, hal ini juga dapat menyebabkan reaksi oksidasi dan akan memberikan elektron ke molekul oksigen (O_2) menjadi radikal anion superoksida,

radikal anion super oksida ini lah yang nanti akan menjadi radikal hidroksil yang akan menyebabkan peroksidasi lipid (13).



Gambar 1 Raksi donor elektron.

Molekul oksigen akan berikatan dengan sitokrom p450 Fe-heme pada situs aktif dan akan diaktivasi menjadi bentuk reaktif dengan menerima elektron. Elektron yang didonasikan ke molekul oksigen berasal dari sitokrom p450 reductase, yang berisi FAD, FMN, dan Fe-S yang memfasilitasi transfer elektron tunggal dari NADPH ke molekul oksigen dapat dilihat pada gambar 1 (7).

3. Alcohol dehidrogenase (ADH)

Alcohol dehidrogenase (ADH) merupakan isoenzim dengan spesifitas yang bervariasi, enzim alcohol dehidrogenase (ADH) berperan dalam metabolisme etanol, ADH yang memiliki spesifitas tertinggi untuk metabolisme etanol adalah anggota keluarga ADH1 (14). Alcohol dehidrogenase (ADH) merupakan enzim kelas oksidoreduktase dengan sub kelas dehidrogenase, enzim ini memiliki kofaktor Zn, enzim alcohol dehidrogenase (ADH) berfungsi untuk mentransfer elektron dari etanol ke NAD untuk menghasilkan asetaldehida dan NADH. Pada situs aktif

enzim alkohol dehidrogenase, serin teraktivasi menarik proton dari gugus etanol -OH, sehingga meninggalkan muatan negatif pada oksigen yang distabilkan oleh Zn. Konfigurasi elektron ini memungkinkan transfer ion ke NAD (7).

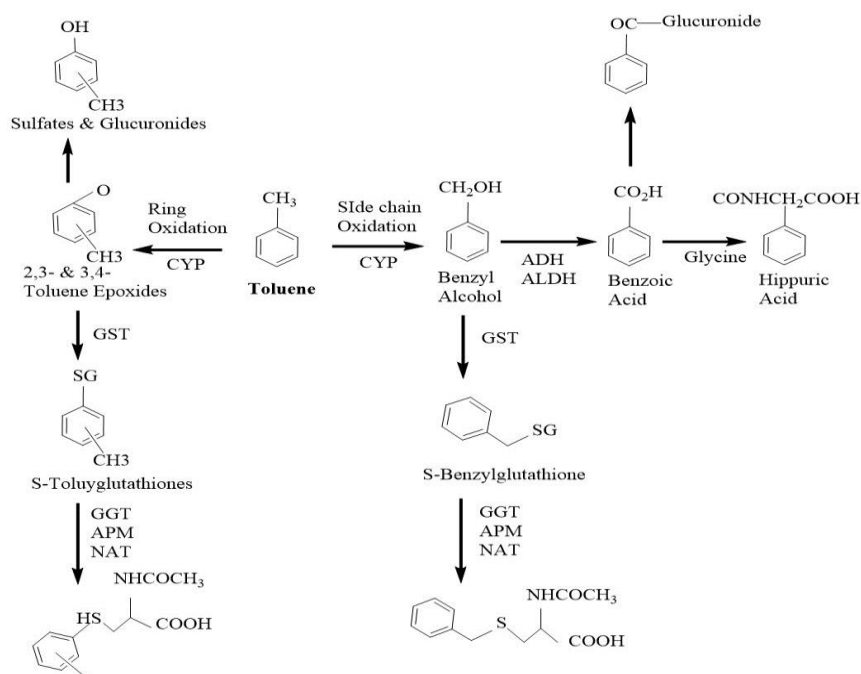
Alcohol dehidrogenase (ADH) hati merupakan rute utama oksidasi etanol menjadi asetaldehida yang merupakan bahan kimia yang beracun. Asetaldehida tidak hanya merusak hati, tetapi juga dapat memasuki darah dan berpotensi dapat merusak jantung dan jaringan lainnya. Pada asupan etanol rendah, banyak asetaldehida yang diproduksi akan teroksidasi menjadi asetat di hati oleh *asetaldehida dehidrogenase* (14).

Dalam metabolisme toluena, toluena yang telah diubah menjadi benzyl

alkohol oleh enzim sitokrom p450, dan akan dikatalis dua langkah oleh enzim ADH dan ALDH menjadi *benzoic acid*. *benzoic acid* kemudian akan dikonjugasikan dengan glisin sehingga terbentuk asam hippuric skema metabolisme toluene dapat dilihat pada gambar 2 (15).

4. Metabolisme Toluena

Toluena masuk kedalam tubuh melalui paparan inhalasi, paparan oral, dan kulit. Toluena akan dibawa ke pembuluh darah, toluena akan diedarkan keseluruh tubuh. Hati merupakan organ yang berfungsi untuk mendetoksifikasi racun, hati memiliki enzim sitokrom p450 yang terdiri dari beberapa isoform salah satunya CYP2E1 yang akan berikatan dengan toluena (11).



Gambar 2. Metabolisme Senyawa Toluene

Hati mengandung banyak komponen retikulum endoplasma halus, enzim sitokrom p450 banyak ditemukan dalam retikulum endoplasma halus. Hati toluena akan berikatan dengan sitokrom P450 isoform 2E1, dan akan menyebabkan terjadinya reaksi oksidasi. Sitokrom P450 akan mengubah toluena menjadi benzyl alkohol (16).

Benzyl alkohol merupakan senyawa yang dihasilkan dari perubahan toluena dalam jalur *side chain oxidation* (15). Benzyl alkohol akan di katalis oleh enzim alkohol dehidrogenase (ADH) dan aldehyde dehidrogenase (ALDH) dan akan menghasilkan senyawa *benzoic acid*. Senyawa benzoic acid akan mengalami konjugasi *glycine* dan akan dikeluarkan bersamaan dengan urine. Metabolisme toluena juga melalui jalur *ring oxidation* dimana pada jalur ini toluena akan menghasilkan senyawa 2,3 toluena *apoxides* dan 3,4 toluena *apoxides* (15).

Senyawa *benzyl alcohol* akan terkonjugasi dengan glutathione (dikatalis *glutathione-s-transferases*), dan akan dikatalitik dengan GGT (*gamma-glutamyl transpeptidase*), yang akan melepaskan asam glutamat, APM (*amino peptidase M*) akan melepaskan glisin, dan NAT (*N-acetyltransferase*) akan menambahkan grup asetil sehingga terbentuk senyawa BMA (*S-benzyl mercapuric*) (17). Senyawa *S-P-toluymercaputuric* (4-MPMA) juga diproduksi dengan mekanisme yang sama

dengan *S-benzylmercapuric* akan tetapi prosesnya diawali dari 3,4- toluena *apoxides* (18) skema mekanisme detoksifikasi toluene dapat di lihat pada gambar 2.

5. Toluene dan Stress Oksidatif

Toluena yang masuk ke dalam tubuh dapat menyebabkan penumpukkan pada organ. Toluena merupakan substrat dari enzim sitokrom p450 (2E1) terikatnya toluena dengan enzim sitokrom p450 (2E1) dapat menyebabkan terbentuknya radikal anion superoksida karena penambahan elektron pada oksigen (O_2) sehingga dapat menyebabkan terbentuknya radikal anion superoksida (11).

Radikal bebas adalah senyawa yang mengandung elektron yang tidak berpasangan, biasanya pada orbit luar (7). Melalui beberapa proses enzimatik dan nonenzimatik yang secara rutin terjadi didalam sel, oksigen (O_2) menerima elektron tunggal untuk membentuk *spesies oksigen reaktif* (ROS). Reaktif oksigen spesies adalah radikal atau senyawa oksigen reaktif tinggi yang siap dikonversi dalam sel menjadi radikal reaktif, ROS yang dibentuk oleh reduksi radikal oksigen (O_2) adalah radikal anion super oksida, hidrogen peroksida non radikal (H_2O_2), dan radikal hidroksil, peningkatan radikal hidroksil pada sel dapat menyebabkan kerusakan komponen sel dan dapat menyebabkan kondisi stres oksidatif skema pembentukan radikal bebas oleh senyawa xenobiotik dapat dilihat pada gambar 3 (7).

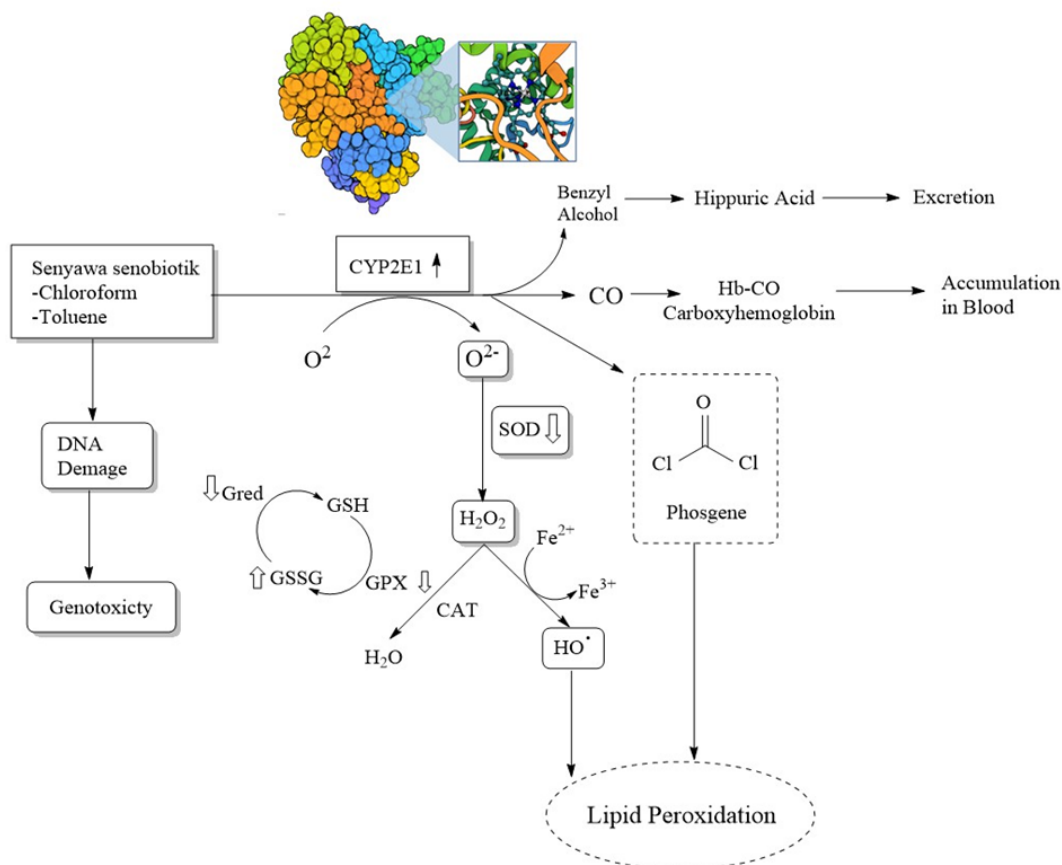
Radikal anion superoksida merupakan radikal yang terbentuk dari reaksi rantai transport elektron. Radikal anion superoksida didalam tubuh akan diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh enzim *superoxide dismutase* (SOD). Hidrogen peroksida (H_2O_2) akan diubah menjadi radikal hidroksil oleh reaksi *fenton* dan *haber-weiss*, radikal hidroksil merupakan radikal paling reaktif dalam menyerang molekul biologis dan dapat menyebabkan ketidak seimbangan radikal bebas dengan antioksidan dalam tubuh sehingga dapat menyebabkan kondisi stres oksidatif (19).

6. Peroksidasi Lipid

Timbulnya radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan makromolekul pada sel dan dapat mempengaruhi kinerja dari sel. Reaksi berantai yang diakibatkan oleh radikal bebas dan peroksidasi lipid memberikan kontribusi terhadap kerusakan yang diakibatkan oleh ROS (20). Peroksidasi lipid merupakan proses dimana oksidan seperti radikal bebas atau spesies non-radikal menyerang lipid yang mengandung ikatan rangkap karbon – karbon, terutama asam lemak jenuh (PUFA) yang melibatkan abstraksi hidrogen dari karbon, dengan penyisipan oksigen yang dihasilkan dalam radikal peroksil lipid dan hidroperoksida (21). Glikolipid, fosfolipid, dan kolesterol merupakan target dari modifikasi peroksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan. Lipid dapat

dioksidasi oleh enzim seperti lipoksigenase, siklooksigenase, dan sitokrom p450. Tingkat peroksidasi lipid yang tinggi dapat menyebabkan apoptosis atau nekrosis kematian sel yang terprogram proses ini akan mengarah pada kerusakan sel molekuler yang dapat menyebabkan pengembangan keadaan patologis (22). Peroksidasi lipid atau reaksi oksigen dengan lipid tidak jenuh menghasilkan berbagai produk oksidasi. Hasil produk utama peroksidasi lipid adalah lipid hidroperoksida (LOOH).

Terdapat berbagai aldehida yang berbeda yang dapat dibentuk sebagai produk sekunder selama peroksidasi lipid, *malondialdehyde* (MDA), *propanal*, *hexanal*, dan *4-hydroxynonenal* (4-HNE). MDA merupakan produk peroksidasi lipid yang paling mutagenik sedangkan 4-HNE adalah yang paling beracun (23). *Malondialdehyde* (MDA) merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid, *Malondialdehyde* merupakan penanda terjadi stres oksidatif, *Malondialdehyde* merupakan zat mutagenik (24). *Malondialdehyde* tidak hanya sebagai biomarker untuk dari lipid oxidation (oxidative decomposition), Mutagenisitas potensial MDA, arterogenesis, dan kankerogenesis juga memperlihatkan pentingnya dari pemantauan MDA (25).



Gambar 3. Senyawa xenobiotik menyebabkan stres oksidatif

Peroksidasi lipid diawali oleh 1. radikal hidroksil yang mengekstraksi atom hidrogen dari lipid tidak jenuh ganda (LH), sehingga membentuk radikal lipid (L). 2. reaksi berantai radikal bebas diperbanyak dengan reaksi dengan oksigen, membentuk radikal peroksi lipid (LOO•) dan lipid peroksida (LOOH). 3. Penataan ulang elektron tunggal menghasilkan degradasi lipid. *malondialdehyde*, salah satu senyawa yang terbentuk, larut dan muncul dalam darah. 4. reaksi berantai dapat diakhiri dengan berkurangnya vitamin E dan antioksidan lain yang larut dalam lemak yang menyumbangkan elektron tunggal. Dua angka pengurangan selanjutnya

membentuk antioksidan yang stabil dan teroksidasi (7).

7. Alanin Aminotransferase (ALT)

Enzim *alanin aminotransferase* (ALT) atau yang sering disebut sebagai serum *glutamic pyruvic transaminase* (SGPT) merupakan enzim yang dihasilkan di hati yang berfungsi untuk merubah L-alanin dan α -Ketoglutarate menjadi L-glutamate dan piruvate (26).

Asam amino alanine diproduksi dari piruvat melalui reaksi transaminasi yang dikatalisis oleh enzim *alanine aminotransaminase* (ALT) dan dapat diubah kembali menjadi piruvat dengan membalikkan reaksi yang sama. Alanine

adalah asam amino glukoneogenik utama karena diproduksi di banyak jaringan untuk pengangkutan nitrogen ke hati (7). *Alanin aminotranferase* (ALT) dapat berfungsi sebagai penanda cedera pada sel hati, cedera sel hati dapat menyebabkan enzim ALT keluar ke pembuluh darah sehingga dapat menyebabkan kadar enzim ALT tinggi pada darah (27). Aktivitas ALT dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk virus hepatitis, konsumsi alkohol, dan pengobatan (26).

8. Aspartat Aminotransferase (AST)

Aspartat aminotransferase atau yang sering disebut sebagai serum *glutamic glutamate-oxaloacetate transferase* (SGOT) merupakan enzim transaminase yang berfungsi untuk mengubah asam amino aspartat dan oksaloasetat menjadi α -ketoglutarat dan glutamat. Reaksi transaminase ini membutuhkan *pyridoxal phosphate* (PLP) (28).

Reaksi transaminase merupakan reaksi transfer nitrogen ditransfer sebagai gugus amino dari asam amino asli ke α -ketoglutarat, membentuk glutamat, sedangkan asam amino asli diubah menjadi asam α -keto yang sesuai. Misalnya, asam amino aspartat dapat ditransaminasi untuk membentuk asam α -keto, oksaloasetat yang sesuai. Dalam prosesnya, gugus amino ditransfer ke α -ketoglutarat, yang diubah menjadi asam amino yang sesuai, glutamat (7).

9. Mekanisme antioksidan didalam tubuh

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat oksidasi dari molekul oksidan, antioksidan meredam radikal bebas dengan cara memberikan donor elektron pada senyawa radikal bebas. Antioksidan dapat mencegah kerusakan sel dan penyakit yang diakibatkan oleh radikal bebas (29). Berdasarkan asalnya antioksidan dibagi menjadi dua antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen merupakan antioksidan yang dihasilkan oleh sel itu sendiri seperti superoxide dismutase, katalase, dan *glutathione peroxidase*. Sedangkan antioksidan eksogen merupakan antioksidan didapatkan dari luar tubuh (30).

10. Glutathione Peroxidase (GPX)

Meredam Radikal Bebas

Glutathione(γ glutamylcysteinylglycine, GSH) merupakan alat utama tubuh untuk melindungi dari kerusakan oksidatif. *Glutathione* terdiri dari *Glutathione* adalah tripeptida yang terdiri dari *glutamat*, *sistein*, dan *glisin*, dengan gugus amino *sistein* tergabung dalam hubungan peptida ke gugus-karboksil glutamat (7).

Glutathione dengan *Gutation peroksidase* (GPX) merupakan antioksidan intraseluler yang secara enzimatik mengurangi radikal hidrogen peroksida dengan merubah hidrogen peroksida menjadi air. Enzim glutathione peroksidase didalam sel ditemukan terutama didalam

sitosol dan mitokondria yang merupakan sumber dari hidrogen peroksida (31).

Dalam reaksi perubahan hidrogen peroksida menjadi molekul air yang dikatalisis oleh glutathione peroksida, grup *reactive sulfhydryl* akan berperan mereduksi hidrogen peroksida menjadi air. Dalam reaksi ini, dua molekul glutathione dioksidasi menjadi satu molekul, glutathione disulfide. Gugus *sulfhydryl* juga dioksidasi dalam reaksi pemutusan rantai nonenzimatis dengan radikal organik (7).

Setelah glutathione teroksidasi (GSSG) terbentuk, glutathione harus direduksi kembali ke bentuk *sulfhidril* dengan glutathione reduktase dalam siklus redoks. Glutathione reduktase mengandung flavin adenine dinucleotide (FAD) dan mengkatalisis transfer elektron dari NADPH ke ikatan disulfida GSSG dan ketika kondisi stress oksidatif maka akan mengalami penumpukkan GSSG dan rasio GSH/GSSG akan menurun. NADPH karenanya penting untuk perlindungan terhadap cedera akibat radikal bebas. Sumber utama NADPH untuk reaksi ini adalah jalur pentosa fosfat (7).

Daftar Pustaka

1. Miglani R, Parveen N, Kumar A, Ansari MA, Khanna S, Rawat G, Et Al. Degradation Of Xenobiotic Pollutants: An Environmentally Sustainable Approach. 2022;12(9):818.
2. Esteves F, Rueff J, Kranendonk Mjox. The Central Role Of Cytochrome P450 In Xenobiotic Metabolism—A Brief Review On A Fascinating Enzyme Family. 2021;11(3):94-114.
3. Wispriyono B, Handoyo E. Risiko Kesehatan Paparan Benzena, Toluena Dan Xylena Petugas Pintu Tol. KEMAS: Jurnal Kesehatan Masyarakat. 2016;11(2):188-94.
4. Melina M. PRARANCANGAN PABRIK KIMIA BENZENA DENGAN PROSES HIDRODEALKILASI TERMAL DARI TOLUENA DAN HIDROGEN KAPASITAS 230.000 TON/TAHUN DITINJAU DARI MENARA DISTILASI: UNNES; 2019.
5. Amien MSM, Suwondo A, Jayanti S. Hubungan Paparan Toluene Dengan Gangguan Fungsi Hati Pada Pekerja Bagian Pengecatan Sebuah Industri Karoseri Di Magelang. Jurnal Kesehatan Masyarakat (E-Journal). 2015;3(1):395-404.
6. Jiménez-Garza O, Baccarelli AA, Byun H-M, Márquez-Gamiño S, Barrón-Vivanco BS, Albores A. CYP2E1 Epigenetic Regulation In Chronic, Low-Level Toluene Exposure: Relationship With Oxidative Stress And Smoking Habit. Toxicology And Applied Pharmacology. 2015;286(3):207-15.
7. Peet A. Marks' Basic Medical Biochemistry: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
8. Wang K. Molecular Mechanisms Of Hepatic Apoptosis. Cell Death & Disease. 2014;5(1):E996-E.
9. Zehra M, Curry JC, Pillai SS, Lakhani HV, Edwards CE, Sodhi K. Elucidating Potential Profibrotic Mechanisms Of Emerging Biomarkers For Early Prognosis Of Hepatic Fibrosis. International Journal Of Molecular Sciences. 2020;21(13):4737.
10. Purbayanti D, Nafarin MR. Rasio AST/ALT Pada Laki-Laki Pengkonsumsi Alkohol Di Jalan Mendawai Kota Palangka Raya. Borneo Journal Of Medical Laboratory Technology. 2019;1(2):46-51.
11. Ding X, Murray G, Lewis D, Pelkonen O, Ferguson SS, Rettie A, Et Al. Cytochromes P450: Role In The Metabolism And Toxicity Of Drugs

- And Other Xenobiotics: Royal Society Of Chemistry; 2008.
12. Leung T-M, Nieto N. CYP2E1 And Oxidant Stress In Alcoholic And Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Journal Of Hepatology*. 2013;58(2):395-8.
 13. Anzenbacher P, Zanger UM. *Metabolism Of Drugs And Other Xenobiotics*: John Wiley & Sons; 2012.
 14. Haseba T. Molecular Evidences Of Non-ADH Pathway In Alcohol Metabolism And Class III Alcohol Dehydrogenase (ADH3). *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi= Japanese Journal Of Alcohol Studies & Drug Dependence*. 2014;49(3):159-68.
 15. Cosnier F, Brochard C, Burgart M, Cossec B. Mercapturic Acids Derived From Toluene In Rat Urine Samples: Identification And Measurement By Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Analytical And Bioanalytical Chemistry*. 2012;404(6-7):1907-17.
 16. Dorsey A. *Toxicological Profile For Toluene*. 2000.
 17. Takahashi S, Matsubara K, Hasegawa M, Akane A, Shiono H. Detection And Measurement Of S-Benzyl-N-Acetylcysteine In Urine Of Toluene Sniffers Using Capillary Gas Chromatography. *Archives Of Toxicology*. 1993;67(9):647-50.
 18. Angerer J, Schildbach M, Krämer A. Gas Chromatographic Method For The Simultaneous Determination Of Sp-Toluymercapturic Acid And S-Phenylmercapturic Acid In Human Urine. *Journal Of Analytical Toxicology*. 1998;22(3):211-4.
 19. Belmont-Díaz J, López-Gordillo AP, Molina Garduño E, Serrano-García L, Coballase-Urrutia E, Cárdenas-Rodríguez N, Et Al. Micronuclei In Bone Marrow And Liver In Relation To Hepatic Metabolism And Antioxidant Response Due To Coexposure To Chloroform, Dichloromethane, And Toluene In The Rat Model. *Biomed Research International*. 2014;2014.
 20. Ray PD, Huang B-W, Tsuji Y. Reactive Oxygen Species (ROS) Homeostasis And Redox Regulation In Cellular Signaling. *Cellular Signalling*. 2012;24(5):981-90.
 21. Korade Z, Xu L, Mirnics K, Porter NA. Lipid Biomarkers Of Oxidative Stress In A Genetic Mouse Model Of Smith-Lemli-Opitz Syndrome. *Journal Of Inherited Metabolic Disease*. 2013;36(1):113-22.
 22. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, And Signaling Mechanisms Of Malondialdehyde And 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*. 2014;2014.
 23. Esterbauer H, Eckl P, Ortner A. Possible Mutagens Derived From Lipids And Lipid Precursors. *Mutation Research/Reviews In Genetic Toxicology*. 1990;238(3):223-33.
 24. Grune T, Berger MM. Markers Of Oxidative Stress In ICU Clinical Settings: Present And Future. *Current Opinion In Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 2007;10(6):712-7.
 25. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A Review Of Recent Studies On Malondialdehyde As Toxic Molecule And Biological Marker Of Oxidative Stress. *Nutrition, Metabolism And Cardiovascular Diseases*. 2005;15(4):316-28.
 26. Liu Z, Que S, Xu J, Peng T. Alanine Aminotransferase-Old Biomarker And New Concept: A Review. *International Journal Of Medical Sciences*. 2014;11(9):925.
 27. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Illustrated Biochemistry*: Mcgraw-Hill; 2014.
 28. Diehl AM, Potter J, Boitnott J, Van Duyn MA, Herlong HF, Mezey E. Relationship Between Pyridoxal 5'-Phosphate Deficiency And Aminotransferase Levels In Alcoholic Hepatitis. *Gastroenterology*. 1984;86(4):632-6.
 29. Ardhie AM. Radikal Bebas Dan Peran Antioksidan Dalam Mencegah Penuaan. *Medicinus*. 2011;24(1):4-9.

30. Zalukhu ML, Phyma AR, Pinzon RT. Proses Menua, Stres Oksidatif, Dan Peran Anti Oksidan. *Cermin Dunia Kedokteran*. 2016;43(10):733-6.
31. Lubos E, Loscalzo J, Handy DE. Glutathione Peroxidase-1 In Health And Disease: From Molecular Mechanisms To Therapeutic Opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2011;15(7):1957-97.