

REVIEW STUDI 2,5-HEKSANDION SEBAGAI MOLEKUL TOKSIK DAN BIOMARKER PAPARAN N-HEKSANA

Kurnia Megawati, Yedi Herdiana

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung Sumedang KM 21, Jatinangor 45363
kurniamegawati.km@gmail.com

Abstrak

Pelarut organik seperti n-heksana sering digunakan dalam industri seperti percetakan, perangkat elektron pembersih, lem, pembuatan sepatu, *furniture*, serta ekstraksi minyak. Di dalam tubuh, n-heksana akan dimetabolisme menjadi 2,5-heksandion. Berdasarkan beberapa penelitian, metabolit ini dapat menyebabkan gangguan berupa polineuropati dan juga apoptosis pada sel ovum. Dalam penelitian lain menyebutkan 2,5-heksandion dapat menjadi biomarker dalam melihat paparan n-heksana. Untuk melihat risiko ini, dapat dilakukan analisis kandungan 2,5-heksandion melalui urin dan serum. Metode analisis yang sering digunakan adalah Kromatografi Gas (KG) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

Kata Kunci: n-heksana, 2,5-heksandion, polineuropati, apoptosis, KG, KCKT

Abstract

Organic solvents such as n-hexane is often used in industries such as printing, electron device cleaners, glue, shoe-making, furniture, and also oil extraction. In the body, n-hexane metabolized to be 2,5-hexandione. Based on several studies, these metabolites can cause interference in the form of polyneuropathy, malformation, and apoptosis cell ovum. In other studies showed that 2,5-hexandione can be a biomarkers of n-hexane exposure. Therefore, necessary analysis of 2,5-hexandione in urine and serum. The analytical method often used is Gas Chromatography (GC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Keyword: n-hexane; 2,5-hexandione; polyneuropathy, apoptosis, GC, HPLC

PENDAHULUAN

Pelarut organik seperti metil-n-butyl keton dan n-heksana menyebabkan polineuropati melalui metabolit beracun berupa 2,5-heksandion [1]. n-Hexane adalah pelarut organik yang mudah menguap dan biasanya digunakan dalam industri seperti percetakan, perangkat elektron pembersih, lem, pembuatan sepatu dan *furniture*. n-hexane diidentifikasi

sebagai zat toksik yang sangat berbahaya karena volatilitas yang tinggi, kelarutan lemak tinggi dan efek akan timbul jika zat terakumulasi dalam tubuh [2]. Berdasarkan tetapan dari Badan Pangan Nasional di Swedia, nilai ambang batas n-heksana adalah 1 mg/kg. Paparan n-heksana pada manusia dapat terjadi melalui berbagai rute, antara lain melalui udara, kulit dan oral. Oleh karena itu sulit

untuk memperkirakan total paparan di lingkungan karena faktor gaya kerja dan kehidupan dapat berkontribusi [1].

2,5-heksandion merupakan metabolit primer n-heksana dan hasil paparan dari metil-n-butyl keton. 2,5 heksandion biasanya digunakan dalam politer, tinta, pembuatan sepatu, serta industri ekstraksi minyak [3]. Berdasarkan studi kasus yang pernah dilakukan, seorang laki-laki yang bekerja di tempat percetakan kartu nama dan *banner* selama 2 tahun mengalami pusing, pembengkakan pada tungkai bagian bawah selama 10 bulan, kesemutan dan sensasi seperti terbakar selama 9,5 bulan. tanpa menggunakan sarung tangan dan pelindung lainnya [4]. Beberapa penelitian menyatakan bahwa penyebab neuropati ini berhubungan dengan pirol. Studi sebelumnya telah menunjukkan bahwa adanya hubungan antara pirol sebagai hasil reaksi kimia dengan 2,5-heksandion [5]. Selain itu, berdasarkan penelitian 2,5-heksandion menginduksi apoptosis sel granulosa ovarium manusia melalui jalur pensinyalan BCL-2, BAX, dan CASPASE-

3 [6].

Gas chromatography–Mass Spectrometry (GC–MS) dan *GC–Flame Ionization Detection* (FID) adalah metode yang paling banyak digunakan dalam penentuan kadar 2,5-heksandion dalam urin [7]. *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan detector UV, Fluorosensi atau MS [1].

Ulasan ini dimaksudkan untuk menjelaskan asal fisiologi 2,5-heksandion, toksisitas dan reaktivitasnya, serta menjelaskan dan mengomentari metode deteksinya.

METODE

Dalam review ini peneliti menggunakan sumber data primer yang dikumpulkan langsung oleh peneliti. Pencarian data primer dilakukan menggunakan Google sebagai sumber informasi dan data peneliti. Daftar pustaka yang relevan digunakan oleh peneliti sebagai sumber informasi lainnya dan sebagai penunjang dari informasi yang tercantum dalam *review*. Pustaka yang diambil merupakan pustaka yang melakukan penelitian dalam 10 tahun

terakhir. Dari 20 jurnal yang di peroleh, 11 jurnal digunakan sebagai sumber *review*.

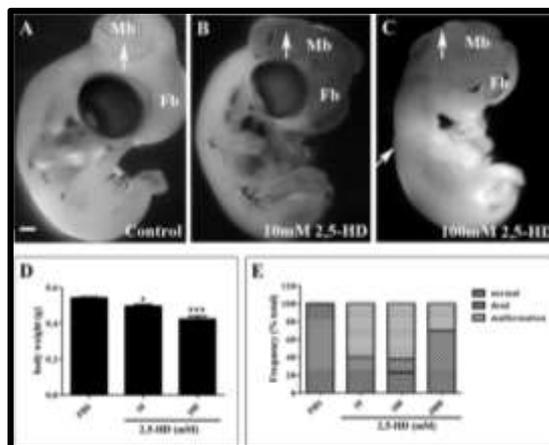
HASIL

Berdasarkan *review* jurnal yang dilakukan, diketahui bahwa 2,5 heksandion sebagai hasil metabolisme dari n-heksana memberikan efek toksik berupa polineuropati dan apoptosis sel. Polineuropati yang telah dibuktikan berupa malformasi pada neuron dari embrio ayam. Sementara itu apoptosis dibuktikan dari penelitian terjadi pada sel granulos ovum manusia yang menunjukkan perbedaan

dengan sel granulos ovum normal. Sementara itu, untuk melihat seberapa besar paparan n-heksana, dapat dilakukan metode analisis menggunakan instrumentasi. Toksisitas yang terjadi serta metode analisis penentuan 2,5-heksandion dapat dilihat dari penjelasan berikut:

A. Malformasi Neuron pada Embrio Ayam

1. Efek Toksik dari 2,5-heksandion pada perkembangan embrio ayam dapat dilihat dari gambar 1 [8].



Gambar 1. Penampakkan embrio kontrol yang berumur 6 hari (A); Penampakkan embrio kelompok uji 10 mM 2,5-HD yang berumur 6 hari (B); Penampakkan embrio uji 100 mM 2,5-HD yang berumur 6 hari (C); Grafik antara kelompok kontrol dan uji dengan berat badan embrio dalam gram (D); Grafik antara kelompok kontrol dan uji dengan frekuensi malformasi dan kematian dari embrio

Pada gambar 1, gambar A, B, dan C tersebut terlihat pada bagian *Midbrain* (Mb) dan *Forebrain* (Fb) berkembang secara normal. Sementara itu, pada embrio yang diberikan 2,5-heksandion, baik 10

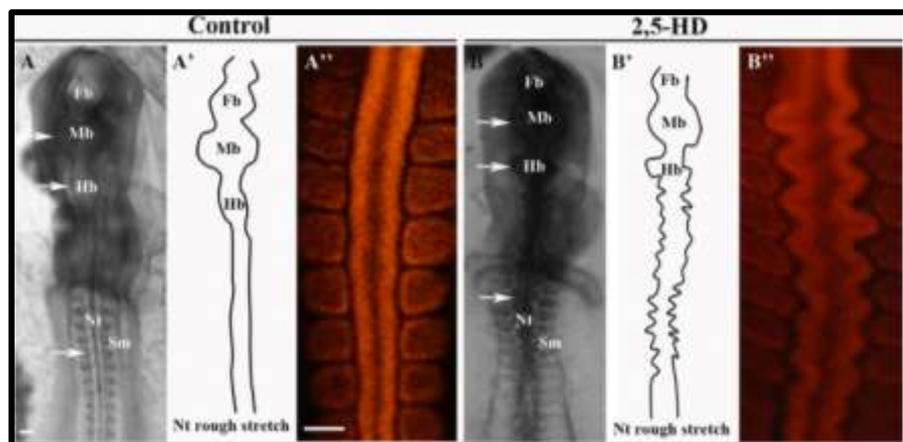
mM dan 100 mM mengalami prematur pada perkembangan Mb dan Fb nya. Dari grafik batang pada gambar D juga dapat terlihat bahwa berat badan embrio yang diberikan 2,5-heksandion lebih rendah

dibandingkan kontrol. Semakin besar konsentrasi 2,5-heksandion, berat embrio semakin rendah. Pada gambar E ditunjukkan malformasi pada embrio ayam. Dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi 2,5-heksandion, malformasi yang dialami semakin banyak dan

kematian pun semakin meningkat.

2. Efek teratogenik pada perkembangan embrio

Efek teratogenik dapat dilihat dari penapakan saraf dorsal pada gambar 2 [8].



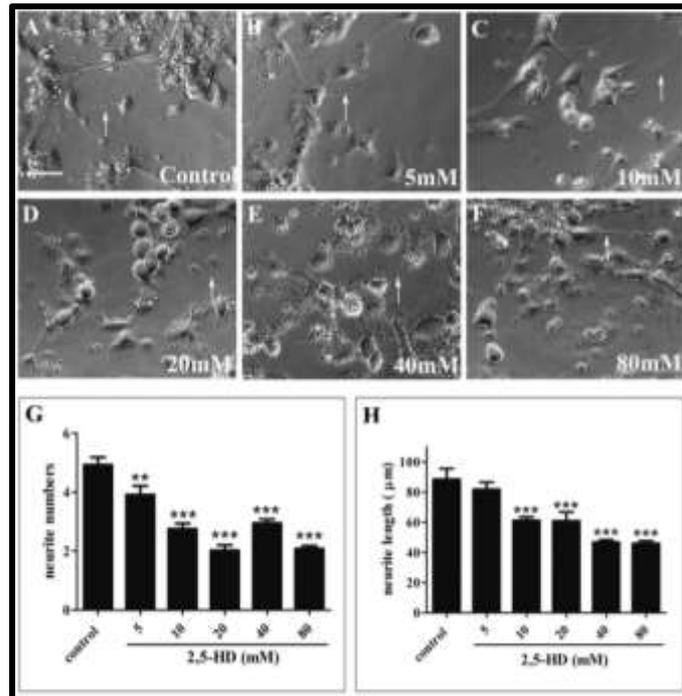
Gambar 2. Morfologi saraf normal pada embrio ayam kelompok kontrol (A,A',A''); Morfologi saraf normal pada embrio ayam kelompok uji yang diberi 2,5-heksandion (B,B',B'')

Pada gambar 2, gambar A dan B dapat dibandingkan bentuk saraf dorsal pada kelompok normal dengan kelompok yang diberikan 2,5 heksandion. Pada kelompok normal, bagian tepi dari saraf dorsal lebih halus dan melengkung. Sementara pada kelompok yang diberi 2,5-heksandion kasar dan berbentuk zig-zag.

Hal ini menunjukkan bahwa 2,5-heksandion mengganggu aktivitas seluler saraf dorsal.

3. Efek sitotoksik pada neuron

Pemberian 2,5-heksdion ternyata berpengaruh pada neurit dari sel saraf. Pengaruh tersebut dapat dilihat pada gambar 3 [8].



Gambar 3. Perkembangan neuron (tanda panah) pada kelompok kontrol (A); Perkembangan neuron (tanda panah) pada kelompok uji dengan 5 mM 2,5-heksandion (B); Perkembangan neuron (tanda panah) pada kelompok uji dengan 10 mM 2,5-heksandion (C); Perkembangan neuron (tanda panah) pada kelompok uji dengan 20 mM 2,5-heksandion (D); Perkembangan neuron (tanda panah) pada kelompok uji dengan 40 mM 2,5-heksandion (E); Perkembangan neuron (tanda panah) pada kelompok uji dengan 80 mM 2,5-heksandion (F); Hubungan antara konsentrasi 2,5-heksandion dengan jumlah neurit (G); Hubungan antara konsentrasi 2,5-heksandion dengan panjang neurit (H).

Pada gambar 3 dapat dilihat bahwa adanya perbedaan dari bentuk, jumlah, dan juga panjang dari sel saraf kontrol dan juga sel saraf kelompok uji yang telah diberikan 2,5-heksandion. Namun, hubungan tersebut tidak linier dengan konsentrasi 2,5-heksandion. Berdasarkan percobaan, jumlah neurit paling sedikit pada kelompok uji yang diberi 20 mM heksandion, sementara panjang neurit yang paling kecil terjadi pada kelompok uji yang diberi 40 serta 80 mM 2,5-

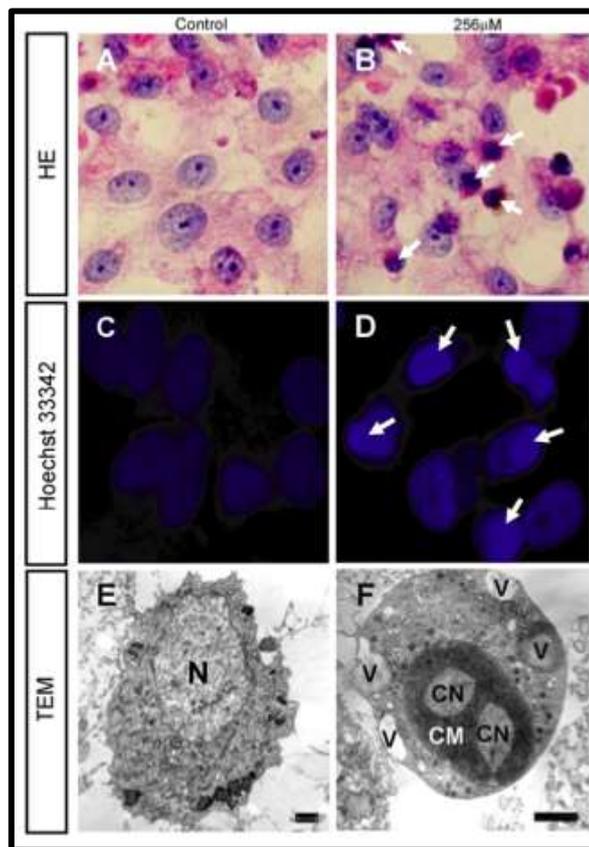
heksandion.

B. Apoptosis Sel Granulosa Ovum diinduksi oleh 2,5-heksandion

Berdasarkan hasil penelitian, terdapat perbedaan antara kultur sel granulosa ovum normal dengan kultur sel granulosa ovum yang telah diberikan 2,5-heksandion 256 µM. Perbedaan yang terjadi antara lain pada pewarnaan *Hematoxylin-eosin (HE)* dimana pada sel yang diberi 2,5-heksandion, jumlahnya lebih banyak tapi ukurannya lebih kecil,

sel bulat kecil, inti sel berwarna biru gelap dan sitoplasma merah terang. Sementara itu pada pewarnaan *Hoechst 33342 Fluorescent*, warna sel yang diberi 2,5-heksandion berfluorosensi biru lebih terang dibandingkan kontrol. Pada observasi ultrastruktur, sel yang diberi 2,5-heksandion menunjukkan penyusutan yang

berbeda, badan sel lebih kecil, inti sel hilang dan organel sel hancur. Secara umum, dari seluruh pengamatan menunjukkan sel yang diberi 2,5-heksandion mengalami apoptosis. Perbedaan bentuk sel granulosa ovum kontrol dengan sel yang telah diberi 2,5-heksandion dapat dilihat dari gambar 4 [6].



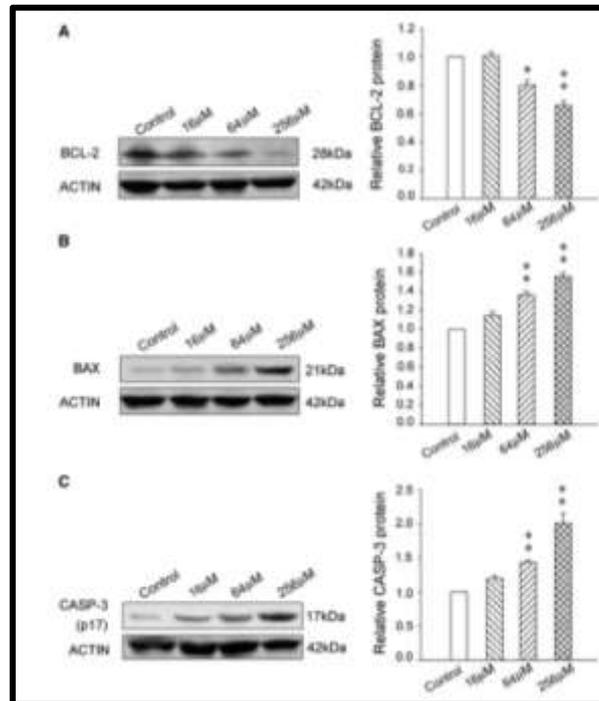
Gambar 4. Sel granulosa ovum kontrol dengan pewarnaan HE (A); Sel granulosa ovum 256 μM 2,5-heksandion dengan pewarnaan HE (B); Sel granulosa ovum kontrol dengan *Hoechst 33342 Fluorescent* (C); Sel granulosa ovum 256 μM 2,5-heksandion dengan *Hoechst 33342 Fluorescent* (D); Sel granulosa ovum kontrol dengan observasi ultrastruktur (E); Sel granulosa ovum 256 μM 2,5-heksandion dengan observasi ultrastruktur (F)

Selain itu, dari hasil penelitian menunjukkan bahwa meningkatnya

konsentrasi 2,5-heksandion yang diberikan pada kultur sel granulosa ovum

menyebabkan penurunan protein BCL-2 sebagai anti-apoptosis serta menyebabkan peningkatan jumlah protein BAX dan

CASPASE sebagai pro-apoptosis. Pengaruh tersebut dapat dilihat melalui gambar 5 [6].

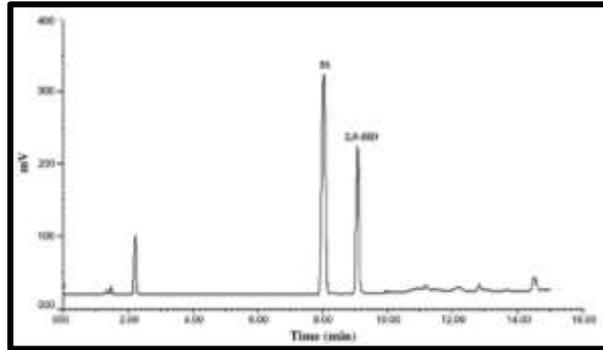


Gambar 5. Pengaruh pemberian 2,5-heksandion terhadap jumlah protein BCL-2 (A); Pengaruh pemberian 2,5-heksandion terhadap jumlah protein BAX (B); Pengaruh pemberian 2,5-heksandion terhadap jumlah protein CASPASE (C)

**B. Analisis 2,5-heksansion dengan
Headspace Solid-Phase Microextraction
dan *Gas Chromatography***

1. Kondisi Kromatogram
Kondisi kromatogram pada metode

kromatografi gas ini diperoleh bahwa nilai Resolusi (R)= 2,99 dan nilai efisiensi (*Plate number*) = 14, 464. Kondisi kromatogram dapat dilihat dari gambar 6.



Gambar 6. Kromatogram urin yang di *spike* 10 mg/L 2,5-heksandion dan 0,5 mg/L 5-metikhexanon-2 (IS) [9].

2. Pemilihan kondisi HS-SPME

a. Evaluasi pemilihan *fiber coating*

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh bahwa jumlah 2,5-heksandion yang terekstraksi paling banyak terjadi jika menggunakan CBX/PDMS, dilanjutkan dengan PDMS/DVB. Namun, di sisi lain, efisiensi pemisahan yang baik diperoleh jika menggunakan PDMS/DVB dengan nilai *plate number* sebesar 14,46. Sementara nilai *plate number* pada *fiber* CBX/PDMS sangat besar, yaitu 1386. Oleh karena itu, *fiber coating* yang digunakan adalah PDMS/DVB [9].

b. Volume sampel

Optimasi volume sampel dilakukan karena jumlah volume sampel dapat mempengaruhi area di bawah. Dari hasil

optimasi, diperoleh bahwa volume sampel yang baik sebesar 2 mL [9].

c. Efek penambahan garam

Garam yang dioptimasi adalah garam Na_2SO_4 dan NaCl . Berdasarkan penelitian, penggunaan garam Na_2SO_4 memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan garam NaCl karena garam NaCl memberikan *peak area* 5,2 kali lebih rendah dibandingkan jika menggunakan garam Na_2SO_4 [9].

d. Ekstraksi, waktu pemanasan dan suhu ekstraksi

Berdasarkan respon dari 2,5-heksandion, diperoleh bahwa suhu yang paling baik untuk digunakan adalah 50°C dan waktu pemanasan sebesar 20 menit [9].

e. Validasi

Nilai LOD dan LOQ menggunakan metode ini yaitu 0.025 and 0.075 mg/L, nilai ini lebih kecil dibandingkan percobaan sebelumnya dengan menggunakan ekstraksi cair-cair atau GC-MS. Linieritas yang diperoleh terdapat pada range 0.075–20.0 mg/L.

f. Pengukuran sampel

Kadar 2,5-heksandion dapat dilakukan dengan metode HS-SPME ini dengan metode yang telah divalidasi. Melalui larutan baku antara range 0,075-2,5 mg/L, diperoleh 5 titik dengan nilai $R^2=0,999$. Kadar 2,5-heksandion yang diperoleh pada sampel adalah antara 0.08 sampai 0.99 mg/L. Hanya ada satu sampel yang kadarnya di atas standar, yaitu di atas 0,4 mg/L

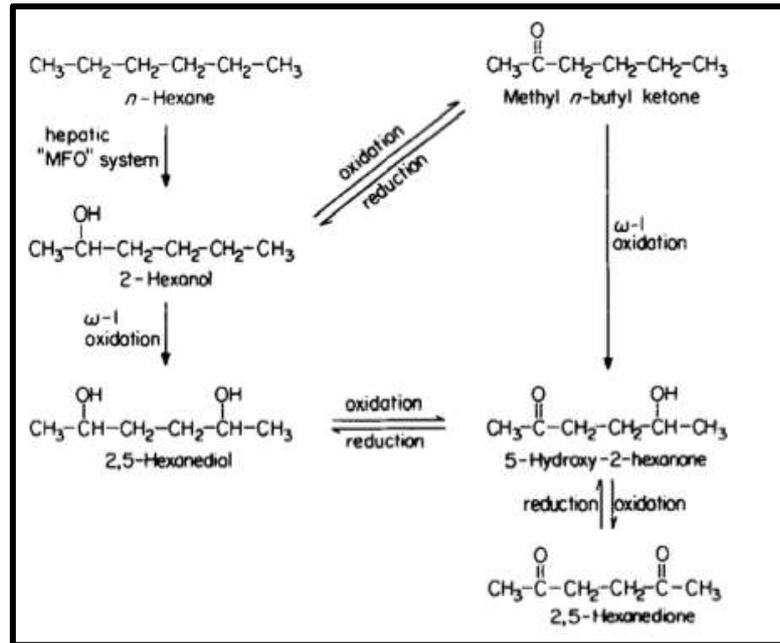
PEMBAHASAN

Asal 2,5-heksandion dalam Tubuh

Sumber utama dari 2,5-heksandione secara *invivo* berasal dari paparan n-heksana. n-heksana akan termetabolisme dalam tubuh membentuk

2,5-heksandion. Senyawa n-heksana ini digunakan sebagai politer, tinta, pembuatan sepatu, serta industri ekstraksi minyak. Senyawa xylene, alkohol, serta obat-obat anastesi yang dimetabolisme di hati dapat meningkatkan enzim hati untuk memetabolisme n-heksana. Pembentukan 2,5-heksandion melibatkan beberapa gen, antara lain BCL-2, BAX dan CASPASE. Berdasarkan penelitian, perokok mempunyai risiko yang lebih besar terhadap kriptogenik polineuropati dengan gen GSTT1. Oleh karena itu, produksi 2,5-heksandion pada urin perokok lebih banyak dibandingkan yang tidak merokok [6].

Pada penelitian sebelumnya, ditunjukkan bahwa neuropati yang terjadi berhubungan dengan pirol yang terbentuk dari reaksi adisi. Jumlah pirol dalam darah meningkat seiring dengan waktu setelah pemberian 2,5-heksandion [5]. Reaksi metabolisme n-heksana dapat dilihat melalui gambar 7.



Gambar 7. Skema mekanisme metabolisme n-heksana

Reaktivitas dan Toksisitas 2,5-heksandion

Paparan dari n-heksana pada manusia atau hewan percobaan dapat menginduksi gangguan syaraf yang ditandai dengan axonopathy distal perifer pusat. Namun mekanisme secara molekuler masih belum jelas. Selain itu, melalui penelitian sebelumnya juga dikatakan bahwa 2,5 heksandion menginduksi apoptosis sel granulosa ovarium manusia melalui jalur pensinyalan BCL-2, BAX, dan CASPASE-3 [6].

a. Polineuropati

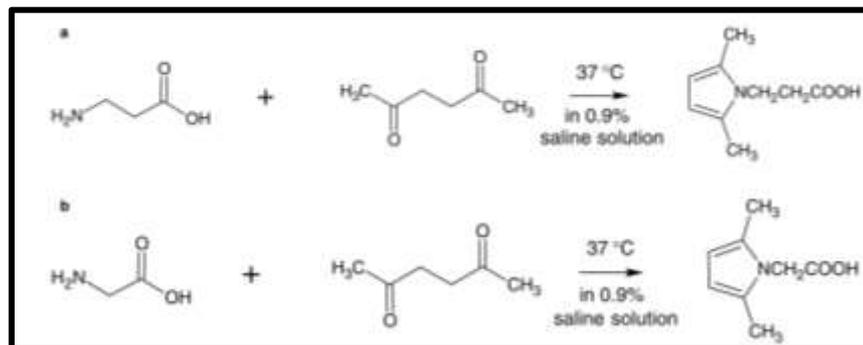
Studi yang telah dilakukan menunjukkan bahwa neuropati disebabkan oleh heksakarbon yang umumnya dimediasi oleh 2,5-heksandion [1]. Meskipun mekanisme gamma-diketon belum diketahui, namun reaksi pirol dianggap sebagai mekanisme pertama yang menyebabkan neuropati. Menurut hipotesis, 2,5 heksandion berikatan dengan protein lysine dan menghasilkan 2,5-dimetilpirol. Pirolisasi yang terjadi menginisiasi gamma diketon yang dapat menginduksi terjadinya neuropati [5].

Selain itu, menurut penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, 2,5-heksandion juga bereaksi dengan

etanolamin membentuk 1-(2-hidroksietil)-2,5-dimetil-pirol. Secara berurutan, pirol ditemukan untuk *autoxidize* untuk membentuk kromofor *orange* [5].

Menurut penelitian yang dilakukan secara *in vitro*, ditemukan bahwa 2,5-heksandion juga reaktif dengan asam amino glisin dan beta-alanin. Dari reaksi dengan asam amino tersebut, terbentuk senyawa pirol. Berdasarkan hasil analisis

dengan H-NMR, produk yang diperoleh dari reaksi antara 2,5-heksandion dengan beta-alanin adalah *3-(2,5-dimethyl-1H-pyrrol-1-yl) propanoic acid*. Sementara itu, produk hasil reaksi antara 2,5-heksandion dengan glisin adalah *(2,5-dimethyl-1H-pyrrol-1-yl) acetic acid*. Reaksi yang terjadi dapat dilihat dari gambar 8 [10].



Gambar 8. Pembentukan senyawa pirol dari reaksi antara 2,5-heksandion dengan beta-alanin (a); Pembentukan senyawa pirol dari reaksi antara 2,5-heksandion dengan glisin (b)

b. Apoptosis sel granulosa pada ovarium

Berdasarkan penelitian, metabolit n-heksana dapat menurunkan fertilitas dari wanita. Melalui investigasi epidemiologi secara retrospektif pada pekerja wanita perempuan di tempat pembuatan sepatu dan supermarket di Portugal, yang

membutuhkan solvent seperti n-heksana dan isomernya dalam pembuatan sepatu, menunjukkan bahwa fungsi reproduksi dan fertilitas pekerja wanita menurun [11]. Penelitian lain yang dilakukan pada tikus betina yang terpapar n-heksana menunjukkan penurunan pada folikel ovum dan peningkatan folikel atretik.

Selain itu juga terdeteksi adanya degenerasi, apoptosis dan nekrosis sel granulosa, sel luteal dan sel stroma [6].

Berdasarkan penelitian, terdapat pengaruh 2,5-heksandion terhadap gen BCL-2, BAX, dan CASPASE-3. Gen BCL-2 merupakan regulator primer apoptosis. BCL-2 bersifat menghambat apoptosis. Mekanisme jelas BCL-2 dalam menghambat apoptosis belum sepenuhnya jelas. Diperkirakan bahwa BCL-2 menghambat apoptosis dengan mengganggu pelepasan Ca^{2+} pada sel endoplasma. Sementara itu, BAX merupakan protein analog dari BCL-2 dan bertindak sebagai antagonis dari BCL-2. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa BAX sebagai menginduksi apoptosis. Beberapa ilmuwan menggunakan immunohistokimia untuk mendeteksi keberadaan protein BAX pada sel granulosa ovum manusia. Mekanisme BAX dalam apoptosis mungkin berhubungan dengan anti-apoptosis dari BCL-2 dan BCL-xL yang dapat membentuk heterodimer sehingga menyebabkan BAX kehilangan efek pro-

apoptosis. CASPASE sendiri merupakan protease cysteine aspartate spesifik dimana aktivasi gen, ekspresi dan regulasinya berperan dalam proses apoptosis [6].

Metode Penentuan 2,5-Heksandion

Berdasarkan penelitian, diperoleh hubungan yang signifikan antara konsentrasi n-heksana di lingkungan dengan jumlah 2,5-heksandion pada urin. Oleh karena itu, 2,5-heksandion pada urin merupakan biomarker yang baik untuk melihat paparan n-heksana [5]. Analisis yang bisa digunakan dalam mendeteksi 2,5-heksandion pada urin antara lain dengan *Gas Chromatography* dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

a. Gas Chromatography (GC)

Penelitian sebelumnya telah dilakukan membuktikan bahwa Gas Chromatography dengan menggunakan *Headspace Solid-Phase Microextraction* dapat digunakan untuk penentuan kadar dari 2,5-heksandion [9]. Pada penentuan suatu senyawa menggunakan instrument, perlu dilakukan optimasi terlebih dahulu

untuk memastikan keefektifitasan pengujian. Optimasi yang dilakukan salah satunya adalah optimasi kondisi kromatografi. Selain itu, optimasi dari HS-SPME, hal ini juga dilakukan untuk membedakan parameter secara signifikan dengan efek dari analisis. Dari optimasi ini dipilih kondisi yang sangat cocok dan baik. Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa biomarker 2,5-heksandion dapat ditemukan di dalam urin. Selain urin, jumlah 2,5-heksandion juga dapat dideteksi dalam serum [5]. Sampel berupa urin lebih banyak digunakan pada penelitian. Alasannya kemungkinan operasional yang lebih mudah dibandingkan dengan serum, apalagi bagi responden yang takut dengan jarum. Sebelum melakukan pengujian, perlu diadakan preparasi sampel terlebih dahulu. Preparasi sampel perlu dilakukan agar sampel yang digunakan siap untuk dianalisis sesuai dengan keadaan dari instrumen.

Validasi metode untuk penentuan kadar 2,5-heksandion juga perlu dilakukan. Validasi metode ini dilakukan sebagai

bentuk konfirmasi dengan pemeriksaan dan penyediaan bukti obyektif bahwa persyaratan tertentu untuk suatu maksud khusus yang terpenuhi [9].

b. *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*

Metode penentuan 2,5-heksandion pada urin menggunakan HPLC telah lama sebelumnya dilakukan. Metode ini dapat dikatakan metode lama. Pada metode ini, perlu dilakukan derivatisasi terlebih dahulu. Derivatisasi ini berfungsi untuk mengubah bentuk senyawa pada sampel menjadi bentuk yang dapat dianalisis pada instrument. Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan, derivatisasi dilakukan dengan penambahan 2,4-dinitrophenylhydrazin (2,4-DNPH). Selain itu, perlu diperhatikan kondisi dari instrument HPLC. Pada penelitian tersebut, digunakan dua macam kolom pemisahan. Pertama adalah kolom ODS serta *supercosyl* LC-18.

Sampai saat ini, belum ada penelitian atau jurnal yang terpublikasi mengenai metode penentuan 2,5-

heksandion yang terbaru. Dibandingkan dengan GC, HPLC memiliki beberapa keunggulan antara lain dapat digunakan untuk isolasi zat yang tidak mudah menguap (*non volatile*), isolasi zat secara termal tidak stabil, pemisahan senyawa anorganik, dan dapat dioperasikan pada suhu kamar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama penulis mengucapkan terimakasih kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayahnya, *review* jurnal ini dapat terselesaikan. Penulis mengucapkan terimakasih kepada, Bapak Muchtaridi, M.Si., Ph.D, Apt. dan Bapak Rizky Abdulah, PhD., Apt selaku dosen pengampu mata kuliah metodologi penelitian serta Bapak Yedi Herdiana, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan ilmu serta saran yang membangun dalam proses pelaksanaan *review* jurnal ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bodil Persson, Magnus Vrethem, Nicola Murgia, Jonas Lindh, Anna-Lena Hällsten, Mats Fredrikson. Urinary 2,5-hexanedione excretion in cryptogenic polyneuropathy compared to the general Swedish population. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2013;8(21):1-7.
2. Yan J, Yin HY, Liu Z, Chi DF, Li Y, Fu QQ, Xie KQ. Effects of garlic oil, age and sex on n-hexane metabolism in rats. *Chin. J. Hyg. Occup.* 2011;29: 49–52.
3. Cheng, X., G. Wang, Z.L. Ma, Y.Y. Chen, J.J. Fan, Z.L. Zhang, K.K.H Lee., H.M. Luo, and X. Yang. Exposure to 2,5-hexanedione can induce neural malformations in chick embryos. *Neurotoxicology*. 2012;33:1239–1247.
4. Pradhan Sunil, Ruchika Tandon. N-Hexane Neuropathy With Vertigo And Cold Allodynia In A Silk Screen Printer: A Case Study. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 2015;28(5):915–919.
5. Yin Hong, Yin Ying Guo, Fu-Yong Song, Tao Zeng dan Ke-Qin Xie. Toxicokinetic study of pyrrole adducts and its potential application for biological monitoring of 2,5-hexanedione subacute exposure. *Spinger*:2013.
6. Yan Sun, Yuan Lin , Hong Li, Jin Liu , Xiaohua Sheng, Wenchang Zhang. 2,5-Hexanedione induces human ovarian granulosa cell apoptosis through BCL-2, BAX, and CASPASE-3 signaling pathways. *Arch Toxicol*. 2012;86:205–215.
7. D.M. Nolasco, A. Gusmão, and M.E.P.B. Siqueira. Urinary 2,5- hexanedione in workers exposed to n-hexane: influence of the sample treatment. *Quim. Nova*. 2007;30: 805–808.
8. Cheng Xin, Guang Wang, Zheng-lai Ma, Yun-yu Chen, Jing-jing Fan, Zhao-long Zhang, Kenneth Ka Ho Lee, Huan-min Luo, Xuesong Yang. Exposure to 2,5-hexanedione can induce neural malformations in chick embryos. *NeuroToxicology*. 2012;3:1239–1247.
9. Felipe Antonio, Patrícia P. Maia, Maria José N. Paiva, and Maria Elisa P.B. Siqueira. Determination of 2,5-Hexanedione in Urine by Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography. *Journal of Analytical Toxicology*. 2012;33.
10. Pei W., J. Misumi, N. Kubota, M. Morikawa, and N. Kimura. Two new reactive targets of 2,5-hexanedione in vitro

- beta-alanine and glycine. *Amino Acids*. 2007;32: 261–264.
11. Cao JT, Huang ZX, Cheng X, Chen Y. Experimental research in sex glands of SD rats after n-hexane inhalation. *Chin J Ind Hygiene Occup*. 2007;25:275–278