EFEK SINERGITAS NANO-KITOSAN DAN ASTAXANTHIN PADA KADAR ENZIM SGPT DAN SGOT TIKUS YANG DIPAPAR FORMALIN

Ambar Wati, Aditiya Marianti [*], Wulan Christijati

Prodi Biologi, Fakultas Matematikan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang
Jl. Raya Sekaran,Gunungpati, Semarang 50229

[*]Email: aditya.marianti.am.@mail.unnes.ac.id

Abstrak

Keamanan pangan merupakan aspek penting dalam kesehatan masyarakat, tetapi penyalahgunaan formalin sebagai bahan pengawet makanan ilegal masih ditemukan. Paparan formalin dapat menyebabkan kerusakan hati melalui peningkatan radikal bebas dan stres oksidatif. Astaxanthin memiliki aktivitas antioksidan, sedangkan nano-kitosan berpotensi meningkatkan efektivitas penghantaran astaxanthin. Penelitian ini bertujuan menganalisis efek sinergitas nano-kitosan dan astaxanthin terhadap kadar SGPT dan SGOT tikus yang dipapar formalin. Penelitian eksperimental ini menggunakan 24 ekor tikus Wistar jantan yang dibagi menjadi enam kelompok, yaitu K− (kontrol normal), K+ (formalin 100 mg/kg BB), P1 (nano-kitosan 64 mg/kg BB), P2 (astaxanthin 75 mg/kg BB), P3 (kombinasi nano-kitosan dan astaxanthin masing-masing 50 mg/kg BB), serta P4 (kombinasi nano-kitosan 50 mg/kg BB dan astaxanthin 75 mg/kg BB). Formalin diberikan secara oral, sedangkan perlakuan diberikan empat jam setelah induksi selama 21 hari. Kadar SGPT dan SGOT dianalisis menggunakan One way ANOVA dengan uji Duncan. Hasil menunjukkan bahwa nano-kitosan cenderung menurunkan kadar SGPT dan SGOT, tetapi penurunannya tidak signifikan secara statistik. Astaxanthin tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap SGOT dan SGPT. Kombinasi kedua bahan juga tidak menurunkan kadar SGPT dan SGOT secara signifikan. Dengan demikian, kombinasi nano-kitosan dan astaxanthin belum menunjukkan efek sinergis. Hasil penelitian ini diharapkan menjadi dasar bagi penelitian lanjutan mengenai potensi kombinasi kedua bahan dalam mendukung pemulihan fungsi hati akibat paparan formalin.

Kata kunci: astaxanthin, formalin, nano-kitosan, SGOT, SGPT.

Abstract

Food safety is an important aspect of public health; however, the misuse of formalin as an illegal food preservative remains a concern. Formalin exposure can cause liver damage through increased free radical production and oxidative stress. Astaxanthin has antioxidant properties, while nano-chitosan may improve astaxanthin delivery. This study aimed to analyze the synergistic effects of nano-chitosan and astaxanthin on SGPT and SGOT levels in formalin-exposed rats. This experimental study used 24 male Wistar rats divided into six groups: K− (normal control), K+ (formalin 100 mg/kg BW), P1 (nano-chitosan 64 mg/kg BW), P2 (astaxanthin 75 mg/kg BW), P3 (nano-chitosan and astaxanthin, each at 50 mg/kg BW), and P4 (nano-chitosan 50 mg/kg BW and astaxanthin 75 mg/kg BW). Formalin was administered orally, followed by treatment four hours after induction for 21 consecutive days. SGPT and SGOT levels were analyzed using one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. The results showed that nano-chitosan tended to reduce SGPT and SGOT levels, although the reductions were not statistically significant. Astaxanthin resulted in a non-significant decrease in SGOT levels and had no significant effect on SGPT levels. The combination of both substances also did not significantly reduce either parameter. In conclusion, nano-chitosan and astaxanthin did not demonstrate a synergistic effect. These findings may serve as a basis for further research on their potential to support liver recovery following formalin exposure.

Keywords: *astaxanthin, formalin, nano-chitosan, SGOT, SGPT*

PENDAHULUAN

Penyalahgunaan formalin sebagai bahan pengawet pangan ilegal masih menjadi masalah serius bagi kesehatan masyarakat, khususnya di negara berkembang dengan pengawasan keamanan pangan yang terbatas. Formalin merupakan larutan yang mengandung sekitar 37% formaldehida yang distabilkan dengan metanol dan banyak digunakan dalam industri, kosmetik, pestisida, serta pengawetan jaringan biologis (Akortiakumah *et al.,* 2022). Meskipun penggunaannya sebagai bahan tambahan

pangan telah dilarang, formalin masih ditemukan pada berbagai produk pangan, seperti tahu, mi basah, ikan asin, dan produk olahan lainnya(Riani *et al.,* 2024; Widyan & Ratulangi, 2024). Keberadaan formalin pada pangan yang dikonsumsi sehari-hari dapat menyebabkan paparan berulang dalam jangka panjang. Kondisi ini menjadi perhatian karena tingginya kebutuhan pangan masyarakat perlu diimbangi dengan pengawasan keamanan pangan yang optimal untuk mencegah risiko kesehatan akibat paparan formalin (Eryani, 2022).

Paparan formalin secara oral dapat menyebabkan kerusakan hati melalui pembentukan *reactive oxygen species* (ROS), peroksidasi lipid, dan kerusakan membran hepatosit yang ditandai dengan peningkatan kadar *serum glutamic pyruvic transaminase* (SGPT) dan *serum glutamic oxaloacetic transaminase* (SGOT) (Mohanty *et al.,* 2020). Kerusakan tersebut berkaitan dengan pembentukan ikatan silang protein dan gangguan metabolisme sel yang dapat memicu stres oksidatif serta inflamasi hati (Zhang *et al.,* 2022). Oleh karena itu, pendekatan berbasis antioksidan banyak dikembangkan untuk mengurangi kerusakan hati akibat paparan zat toksik. Astaxanthin, salah satu karotenoid xantofil yang berasal dari β-karoten, memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan mampu mengaktivasi jalur Nrf2 untuk meningkatkan sistem pertahanan antioksidan endogen (Lee *et al.,* 2022). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa astaxanthin dapat menurunkan kadar SGPT dan SGOT pada berbagai model hepatotoksisitas, termasuk kerusakan hati akibat paparan formalin (Arefpour *et al.,* 2024)

Meskipun memiliki potensi dalam memperbaiki kerusakan hati, penggunaan astaxanthin masih terbatas karena kelarutannya dalam air rendah, stabilitasnya kurang baik, dan bioavailabilitas oralnya rendah (Shakeri *et al.,* 2019). Sistem penghantaran berbasis nanoteknologi menjadi salah satu strategi yang menjanjikan untuk mengatasi keterbatasan tersebut. Nano-kitosan merupakan bahan pembawa yang bersifat biokompatibel, *biodegradable*, dan mukoadhesif sehingga dapat meningkatkan stabilitas serta absorpsi senyawa bioaktif di usus (Iber *et al.,* 2021). Selain berperan sebagai sistem penghantaran, nano-kitosan juga dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan intrinsik yang mampu menghambat peroksidasi lipid serta menurunkan kadar SGPT dan SGOT(Ashoush *et al.,* 2022; Marianti *et al.,* 2024a). Beberapa penelitian juga menunjukkan efektivitas nano-kitosan sebagai pembawa senyawa antioksidan dalam memperbaiki kerusakan hati pada model hewan (Hasanzade *et al.,* 2025; Karimzadeh *et al.,* 2025; Mondal *et al.,* 2022)

Meskipun efek nano-kitosan dan astaxanthin dalam memperbaiki kerusakan hati telah banyak diteliti, penelitian mengenai efek kombinasi keduanya pada kerusakan hati akibat paparan formalin masih terbatas. Efektivitas kombinasi nano-kitosan dan astaxanthin pada kondisi tersebut masih perlu diteliti lebih lanjut. Kombinasi keduanya diduga dapat memberikan efek yang lebih optimal melalui mekanisme antioksidan yang saling melengkapi serta peningkatan bioavailabilitas astaxanthin. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek sinergitas kombinasi nano-kitosan dan astaxanthin terhadap kadar SGPT dan SGOT pada tikus Wistar yang dipapar formalin secara oral.

METODE

Penelitian ini menggunakan tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan sebagai hewan coba yang dipaparkan dengan formalin serta diberikan perlakuan nano-kitosan dan astaxanthin. Tikus diperoleh dari Rumah Tikus Biologi Universitas Negeri Semarang, Jawa Tengah. Desain penelitian yang digunakan adalah *post-test-only control group design*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang, serta Balai Laboratorium Kesehatan dan Pengujian Alat Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. Karakteristik tikus yang digunakan adalah tikus Wistar jantan dengan berat badan 190–300 gram, bergerak aktif, memiliki nafsu makan yang baik, serta belum pernah digunakan sebagai sampel penelitian sebelumnya.

Dalam penelitian ini, hewan coba dibagi menjadi enam kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif tanpa paparan formalin (K−), kelompok kontrol positif yang diinduksi formalin 10% (K+), kelompok perlakuan nano-kitosan (P1), kelompok perlakuan astaxanthin (P2), kelompok perlakuan kombinasi nano-kitosan dan astaxanthin formulasi 1 (P3), serta kelompok perlakuan kombinasi nano-kitosan dan astaxanthin formulasi 2 (P4). Jumlah sampel pada masing-masing kelompok ditentukan menggunakan rumus Federer, sehingga diperoleh empat ekor tikus pada setiap kelompok. Dosis formalin 10% yang digunakan untuk induksi adalah 100 mg/kg berat badan (BB), sedangkan dosis nano-kitosan pada kelompok P1 adalah 64 mg/kg BB dan dosis astaxanthin pada

kelompok P2 adalah 75 mg/kg BB. Pada kelompok kombinasi, formulasi 1 (P3) terdiri atas nano-kitosan dan astaxanthin dengan dosis masing-masing 50 mg/kg BB, sedangkan formulasi 2 (P4) terdiri atas nano-kitosan dosis 50 mg/kg BB dan astaxanthin dosis 75 mg/kg BB. Induksi formalin dilakukan secara oral selama 21 hari berturut-turut, sedangkan perlakuan nano-kitosan, astaxanthin, maupun kombinasi keduanya pada kelompok P1–P4 diberikan secara oral empat jam setelah induksi formalin setiap hari.

Tahapan penelitian terdiri atas masa aklimatisasi selama tujuh hari, induksi formalin dan pemberian perlakuan selama 21 hari, yang dilanjutkan dengan terminasi dan pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan kadar serum tikus. Selama penelitian, tikus diberikan pakan dan minum secara *ad libitum* serta dipelihara dalam kondisi pencahayaan normal. Setelah proses terminasi, sampel darah diambil melalui sinus orbitalis menggunakan tabung mikrohematokrit. Sampel darah kemudian didiamkan selama 30 menit dan disentrifugasi selama 15 menit untuk memperoleh serum. Kadar SGPT dan SGOT diukur menggunakan metode spektrofotometri UV–Vis sesuai dengan pedoman *International Federation of Clinical Chemistry* (IFCC). Sebanyak 100 µL serum dicampurkan dengan 1 mL reagen dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama satu menit. Absorbansi kemudian diukur pada panjang gelombang 340 nm pada menit ke-1, ke-2, dan ke-3, dengan hasil pengukuran dinyatakan dalam satuan U/L. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS versi 23.0 melalui uji ANOVA satu arah (*one-way analysis of variance*) dan dilanjutkan dengan uji *Duncan's multiple range test*. Seluruh prosedur penelitian telah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Semarang dengan nomor *ethical clearance* 167/KEPK/FK/KLE/2025.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data hasil penelitian merupakan hasil pengukuran kadar SGPT dan SGOT menggunakan metode spektrofotometri UV–Vis sesuai dengan pedoman IFCC dan dinyatakan dalam satuan U/L. Rerata kadar SGPT dan SGOT pada masing-masing kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 1. Kelompok kontrol positif (K+) menunjukkan rerata kadar SGPT dan SGOT yang lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif (K−), menunjukkan adanya gangguan hepatoseluler akibat induksi formalin. Pemberian nano-kitosan secara tunggal (P1) menunjukkan kadar SGPT dan SGOT yang lebih rendah dibandingkan K(+), sedangkan astaxanthin (P2) menunjukkan kadar SGOT yang lebih rendah dibandingkan K(+), tetapi kadar SGPT tertinggi. Pada kelompok kombinasi (P3 dan P4), terdapat variasi kadar SGPT dan SGOT, dengan kadar SGOT tertinggi pada P3. Secara keseluruhan, rerata kadar SGPT dan SGOT terendah terdapat pada K(−), sedangkan kadar SGPT dan SGOT tertinggi masing-masing terdapat pada P2 dan P3. Data kadar SGPT dan SGOT yang diperoleh dianalisis secara statistik untuk mengidentifikasi perbedaan kadar antarkelompok perlakuan. Uji prasyarat meliputi uji normalitas Shapiro–Wilk dan homogenitas Levene. Hasil pengujian menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan homogen, sehingga dilakukan dengan analisis One-Way ANOVA. Hasil uji One-Way ANOVA, diperoleh nilai F untuk SGPT 3,724 dengan signifikansi 0,020 dan untuk SGOT nilai F = 2,984 dengan signifikansi 0,043. Karena nilai signifikan <0,05 maka baik data SGPT maupun SGOT minimal ada satu kelompok yang berbeda signifikan. Untuk mengetahui secara spesifik kelompok atau perlakuan mana saja yang berbeda satu sama lain, maka dilanjutkan dengan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT). Hasil uji Duncan kadar SGPT dan SGOT disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji Duncan pada kadar SGPT dan SGOT

Kelompok	Mean ± SD	
	SGPT	SGOT
K(-)	45,75 ± 6,41^{a}	108,83 ± 2,58^{a}
K(+)	63,20 ± 7,51^{b}	153,25 ± 25,16^{b}
P1	54,70 ± 1,41^{ab}	125,33 ± 11,05^{ab}
P2	63,35 ± 5,12^{b}	138,28 ± 21,85^{ab}
P3	62,57 ± 12,38^{b}	156,77 ± 29,96^{b}
P4	59,83 ± 6,27^{b}	146,50 ± 20,14^{b}

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan

Hasil uji Duncan menunjukkan adanya perbedaan rerata kadar SGPT dan SGOT antar kelompok perlakuan. Pada kadar SGPT, kelompok K(−) berbeda nyata dengan kelompok K(+), P2, P3, dan P4. Sementara itu, kelompok P1 tidak berbeda nyata dengan K(−) maupun kelompok lainnya. Berdasarkan nilai rerata, P1 menunjukkan kadar SGPT lebih rendah dibandingkan K(+), yang mengindikasikan adanya kecenderungan perbaikan kondisi hepatoseluler setelah pemberian nano-kitosan. Pada kadar SGOT, kelompok K(−) berbeda nyata dengan K(+), P3, dan P4. Kelompok P1 dan P2 tidak berbeda nyata dengan K(−) maupun kelompok lainnya. Secara numerik, P1 menunjukkan kadar SGOT lebih rendah dibandingkan K(+). Sementara itu, pemberian kombinasi nano-kitosan dan astaxanthin (P3 dan P4) belum menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan pemberian nano-kitosan tunggal (P1).

Formalin merupakan senyawa reaktif yang dapat memicu stres oksidatif, terutama pada paparan dosis tinggi maupun dosis rendah dalam jangka panjang. Paparan formalin diketahui meningkatkan pembentukan reactive oxygen species (ROS), menurunkan kadar glutathione (GSH), menginduksi peroksidasi lipid, serta mengganggu fungsi mitokondria dan produksi ATP (Bae *et al.,* 2017; Paudel *et al.,* 2025). Kondisi tersebut dapat menyebabkan kerusakan hepatoseluler yang ditandai dengan peningkatan pelepasan SGPT dan SGOT ke dalam sirkulasi darah (Renu *et al.,* 2020). Weng *et al.,* (2026) juga melaporkan bahwa paparan formalin dapat mengganggu fungsi mitokondria dan meningkatkan biomarker kerusakan hati. Peningkatan kadar SGPT dan SGOT pada kelompok K(+) dalam penelitian ini menunjukkan bahwa induksi formalin mampu menimbulkan gangguan hepatoseluler pada hewan uji.

Pemberian nano-kitosan secara tunggal pada kelompok P1 menunjukkan kecenderungan penurunan kadar SGPT dan SGOT dibandingkan kelompok K(+), meskipun perbedaannya belum signifikan secara statistik. Kecenderungan tersebut diduga berkaitan dengan aktivitas antioksidan nano-kitosan. Gugus amina (-NH_2) dan hidroksil (-OH) pada nano-kitosan berpotensi menangkap radikal bebas melalui mekanisme donor hidrogen, sehingga dapat membantu menurunkan stres oksidatif pada hepatosit (AlKandari *et al.,* 2024; Zhong-Feng *et al.,* 2018). Aktivitas tersebut juga berpotensi menghambat peroksidasi lipid dan mempertahankan integritas membran sel, sehingga dapat mengurangi pelepasan SGPT dan SGOT ke dalam sirkulasi (Ivanova & Yaneva, 2020). Temuan ini sejalan dengan (Y. A ; Ashoush *et al.,* 2022) dan (Marianti *et al.,* 2024) yang melaporkan aktivitas antioksidan nano-kitosan. Ukuran partikel nano yang lebih kecil dapat meningkatkan luas permukaan dan ketersediaan gugus aktif untuk berinteraksi dengan radikal bebas, sehingga berpotensi meningkatkan aktivitas antioksidan dibandingkan kitosan berukuran lebih besar (Geng *et al.,* 2024; Jafari *et al.,* 2020). Pada penelitian ini, aktivitas tersebut belum menghasilkan perbedaan kadar SGPT dan SGOT yang signifikan, yang menunjukkan bahwa efek perbaikan nano-kitosan belum cukup kuat pada kondisi paparan formalin yang digunakan.

Pemberian astaxanthin pada kelompok P2 menunjukkan kadar SGPT yang relatif sebanding dengan kelompok K(+), sedangkan kadar SGOT cenderung lebih rendah. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa kadar SGPT dan SGOT pada P2 belum berbeda signifikan dengan kelompok K(+), sehingga astaxanthin pada dosis yang digunakan belum menunjukkan efek perbaikan yang nyata terhadap gangguan hepatoseluler akibat induksi formalin. Astaxanthin merupakan karotenoid dengan aktivitas antioksidan yang mampu menangkap ROS dan meningkatkan pertahanan antioksidan endogen melalui aktivasi jalur Nrf2–Keap1, termasuk peningkatan SOD, CAT, dan GSH (Dang *et al.,* 2024; Davinelli *et al.,* 2022). Aktivitas tersebut berpotensi mempertahankan integritas hepatosit dan mendukung proses pemulihan setelah paparan formalin. Namun, perubahan stres oksidatif tidak selalu langsung tercermin pada kadar SGPT dan SGOT karena kedua biomarker tersebut juga dipengaruhi oleh tingkat kerusakan dan proses pemulihan hepatoseluler. Pada penelitian ini, efek astaxanthin terhadap stres oksidatif dan fungsi mitokondria belum cukup untuk menghasilkan perubahan kadar SGPT dan SGOT yang signifikan pada dosis dan durasi perlakuan yang diberikan (Ruslim *et al.,* 2025).

Kelompok kombinasi P3 dan P4 belum menunjukkan penurunan kadar SGPT dan SGOT yang lebih baik dibandingkan pemberian nano-kitosan atau astaxanthin secara tunggal. Kadar SGOT pada P3 bahkan lebih tinggi dibandingkan K(+), sedangkan hasil uji Duncan menunjukkan bahwa kelompok kombinasi belum berbeda signifikan dengan kontrol positif. Secara teoritis, kombinasi nano-kitosan dan

astaxanthin berpotensi memberikan efek yang lebih optimal karena nano-kitosan dapat membantu meningkatkan stabilitas dan bioavailabilitas astaxanthin (Mikušová & Mikuš, 2021).Namun, efek tersebut belum terlihat pada penelitian ini. Pelepasan astaxanthin yang terlalu cepat di saluran pencernaan berpotensi menyebabkan degradasi senyawa sebelum mencapai lokasi absorpsi yang optimal (Kim *et al.,* 2022). Ukuran nanopartikel yang sangat kecil juga dapat meningkatkan risiko *burst release* yang memengaruhi kestabilan sistem penghantaran dan ketersediaan senyawa aktif (Martínez-Álvarez *et al.,* 2020). Kondisi tersebut diduga membatasi jumlah astaxanthin yang tersedia untuk diserap dan mencapai jaringan target. Efektivitas sistem penghantaran nano tidak hanya ditentukan oleh ukuran partikel, tetapi juga oleh stabilitas formulasi, karakteristik pelepasan, dan bioavailabilitas senyawa aktif.

Secara keseluruhan, pemberian nano-kitosan dan astaxanthin secara tunggal menunjukkan kecenderungan perbaikan kadar SGPT dan SGOT, tetapi efek tersebut belum menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol positif. Kombinasi kedua bahan juga belum memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan pemberian tunggal. Temuan ini menunjukkan bahwa aktivitas biologis bahan aktif belum sepenuhnya menghasilkan perbaikan biomarker hepatoseluler pada kondisi paparan formalin yang digunakan. Faktor dosis, durasi pemberian, tingkat kerusakan hepatoseluler, serta stabilitas dan karakteristik pelepasan formulasi dapat memengaruhi respons terhadap perlakuan. Oleh karena itu, pengembangan formulasi nano-kitosan dan astaxanthin perlu mempertimbangkan karakteristik pelepasan dan bioavailabilitas bahan aktif untuk memperoleh efek perbaikan yang lebih optimal.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, pemberian nano-kitosan secara tunggal menunjukkan kecenderungan penurunan kadar SGPT dan SGOT, sedangkan astaxanthin menunjukkan kecenderungan penurunan kadar SGOT pada tikus yang diinduksi formalin. Pemberian kombinasi nano-kitosan dan astaxanthin belum menghasilkan penurunan kadar SGPT dan SGOT yang lebih baik dibandingkan pemberian nano-kitosan secara tunggal. Pada kondisi dan dosis yang digunakan, kombinasi nano-kitosan dan astaxanthin belum menunjukkan keunggulan dalam memperbaiki biomarker kerusakan hepatoseluler dibandingkan perlakuan tunggal.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang yang telah memfasilitasi proses penelitian dan Komisi etik penelitian kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Semarang dengan menerbitkan Ethical Clearance.

DAFTAR PUSTAKA

Akortiakumah, J. K., Dartey, A. F., Kuug, A. K., Lotse, C. W., Gnagmache, G. K., & Raji, A. S. (2022). A qualitative exploratory study on the effects of formalin on mortuary attendants. *SAGE Open Medicine*, *10*, 1–8. https://doi.org/10.1177/20503121221131216

AlKandari, F. M., Mohamed, H. S., Ahmed, S. A., Mahmoud, B., & Mahmoud, A. M. (2024). Protective effects of propolis and chitosan nanoparticles against ibuprofen-induced hepatotoxicity in albino rats. *Diseases, 12*(3), 49. https://doi.org/10.3390/DISEASES12030049

Arefpour, H., Rasaei, N., Amini, M. R., Salavatizadeh, M., Hashemi, M., Makhtoomi, M., ….. Hekmatdoost, A. (2024). The effects of astaxanthin supplementation on liver enzyme levels. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research. 94*(5–6), 434–442. https://doi.org/10.1024/0300-9831/A000804

Ashoush, Y.A., El-Sayed, S.M., & Abd-Elwahab, M.A. (2022). Hepatoprotective effects of chitosan and chitosan nanoparticles. *Menoufia Journal of Agricultural Biotechnology*, *7*(2), 27–26. https://doi.org/10.21608/MJAB.2022.263921

Bae, S., Chon, J., Field, M. S., & Stover, P. J. (2017). Alcohol dehydrogenase 5 is a source of formate for de novo purine biosynthesis in HepG2 cells. *Journal of Nutrition*, *147*(4), 499–505. https://doi.org/10.3945/jn.116.244467

Dang, Y., Li, Z., & Yu, F. (2024). Recent advances in astaxanthin as an antioxidant in food applications. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *13*(7). https://doi.org/10.3390/ANTIOX13070879

Davinelli, S., Saso, L., D'angeli, F., Calabrese, V., Intrieri, M., & Scapagnini, G. (2022). Astaxanthin as a modulator of Nrf2, NF-κB, and their crosstalk: molecular mechanisms and possible clinical applications. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *27*(2). https://doi.org/10.3390/MOLECULES27020502

Eryani, R. D. (2022). Bahaya boraks dan formalin dalam makanan bagi kesehatan dan upaya pencegahan. Pendera Cahaya*: Jurnal Pendidikan Dan Pembelajaran*, *2*.

Geng, F., Zhang, M., Sun, T., Xie, J., Gan, J., Li, X., & Xue, B. (2024). Effect of molecular weight of chitosan on quercetin-loaded chitosan nanoparticles. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *104*(15), 9531–9539. https://doi.org/10.1002/JSFA.13777

Hasanzade, P., Mosayebi, G., Ganji, A., Fahimirad, S., & Ghazavi, A. (2025). Curcumin-loaded chitosan nanoparticles: a promising approach to liver fibrosis prevention. *BMC Pharmacology and Toxicology 2025 26:1*, *26*(1), 190-. https://doi.org/10.1186/S40360-025-01031-W

Iber, B. T., Kasan, N. A., Torsabo, D., & Omuwa, J. W. (2021). A review of various sources of chitin and chitosan in nature. *Journal of Renewable Materials*, *10*(4), 1097–1123. https://doi.org/10.32604/JRM.2022.018142

Ivanova, D. G., & Yaneva, Z. L. (2020). Antioxidant properties and redox-modulating activity of chitosan and its derivatives: biomaterials with application in cancer therapy. *BioResearch Open Access*, *9*(1), 64–72. https://doi.org/10.1089/BIORES.2019.0028

Jafari, H., Bernaerts, K. V., Dodi, G., & Shavandi, A. (2020). Chitooligosaccharides for wound healing biomaterials engineering. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, *117*. https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2020.111266

Karimzadeh, K., Unniappan, S., & Zahmatkesh, A. (2025). Spirulina platensis peptide-loaded nanoliposomes alleviate hepatic lipid accumulation in male wistar rats by influencing redox homeostasis and lipid metabolism via the AMPK signaling pathway. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *197*(3), 1696–1725. https://doi.org/10.1007/S12010-024-05089-W

Kim, E. S., Baek, Y., Yoo, H. J., Lee, J. S., & Lee, H. G. (2022). Chitosan-tripolyphosphate nanoparticles prepared by ionic gelation improve the antioxidant activities of astaxanthin in the in vitro and in vivo model. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *11*(3). https://doi.org/10.3390/ANTIOX11030479

Lee, J., Kim, M. H., & Kim, H. (2022). Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of astaxanthin on gastrointestinal diseases. *International Journal of Molecular Sciences 2022, Vol. 23, Page 15471*, *23*(24), 15471. https://doi.org/10.3390/IJMS232415471

Marianti, A., Amalina, N. D., Dimarti, S. C., Anindita, R., Ramadhan, M. D. D., & Ramadani, M. B. (2024a). Protective effects of chitosan nanoparticles against hepatic and renal damage in rats with chronic lead poisoning. *Iranian Journal of Toxicology*, *18*(3), 130–137. https://doi.org/10.32592/IJT.18.3.130

Marianti, A., Amalina, N. D., Dimarti, S. C., Anindita, R., Ramadhan, M. D. D., & Ramadani, M. B. (2024b). Protective effects of chitosan nanoparticles against hepatic and renal damage in rats with chronic lead poisoning. *Iranian Journal of Toxicology*, *18*(3), 130–137. https://doi.org/10.32592/IJT.18.3.130

Martínez-Álvarez, Ó., Calvo, M. M., & Gómez-Estaca, J. (2020). Recent advances in astaxanthin micro/nanoencapsulation to improve its stability and functionality as a food ingredient. *Marine Drugs*, *18*(8), 406. https://doi.org/10.3390/MD18080406

Mikušová, V., & Mikuš, P. (2021). Advances in chitosan-based nanoparticles for drug delivery. *International Journal of Molecular Sciences, 22 (17),* 9652. https://doi.org/10.3390/IJMS22179652

Mohanty, B. P., Mahanty, A., Mitra, T., Mohanty, S., Naik, A. K., & Parija, S. C. (2020). Proteomic and transcriptomic changes in rat liver following oral feeding of formaldehyde. *Chemosphere*, *245*. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125599

Mondal, S., Das, S., Mahapatra, P. K., & Saha, K. Das. (2022). Morin encapsulated chitosan nanoparticles (MCNPs) ameliorate arsenic induced liver damage through improvement of the antioxidant system and prevention of apoptosis and inflammation in mice. *Nanoscale Advances*, *4*(13), 2857–2872. https://doi.org/10.1039/D2NA00167E

Paudel, S., Sim, H., Kang, E., Kim, M., Park, C. W., Na, A. ….. Lee, S. (2025). Characterization of formaldehyde-induced hepatotoxicity based on proteometabolomic analysis. *Toxicology Letters*, *412*, 212–222. https://doi.org/10.1016/ J.TOXLET.2025.09.003

Renu, K., Saravanan, A., Elangovan, A., Ramesh, S., Annamalai, S., Namachivayam, A., ….. Valsala Gopalakrishnan, A. (2020). An appraisal on molecular and biochemical signalling cascades during arsenic-induced hepatotoxicity. *Life Sciences*, *260*, 118438. https://doi.org/10.1016/J.LFS.2020.118438

Riani, S. P., Valoma, V., Zeti, Z., Fasiha, N., Rani, R., & Nandasari, N. (2024). Uji formalin dan boraks pada ikan asin, ikan segar, tahu. *Journal of Food Security and Agroindustry*, *2*(3), 94–102. https://doi.org/10.58184/JFSA.V2I3.480

Ruslim, W. H., Santoso, A. H., Destra, E., Jap, A. N., & Teguh, S. K. M. M. (2025). Peran skrining SGOT dan SGPT sebagai deteksi dini risiko hepatotoksisitas pada usia produktif. *Health Community Service*, *3*(1), 28–32. https://doi.org/10.47709/hcs.v3i1.6286

Shakeri, M., Razavi, S. H., & Shakeri, S. (2019). Carvacrol and astaxanthin co-entrapment in beeswax solid lipid nanoparticles as an efficient nano-system with dual antioxidant and anti-biofilm activities. *LWT*, *107*, 280–290. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.03.031

Weng, Y., Zhang, S., Wu, Y., Chang, S., Zhou, C., Peng, G., & Yuan, W. (2026). Mechanism insight into triggering reactive oxygen species generation and HCHO oxidation derived from efficient electron transfer on polar bonds. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *14*(3), 122776. https://doi.org/10.1016/J.JECE.2026.122776

Widyan, R., & Ratulangi, R. (2024). Identifikasi formalin dan boraks pada sampel tahu, mie kuning dan terasi menggunakan tes kit. *Jurnal Sains Dan Teknologi*, *6*(1), 71–77. https://doi.org/10.55338/saintek.v6i1.3168

Zhang, L., Li, Y., Wang, L., Zhang, S., Zhang, G., Zuo, M., ….Cong, B. (2022). A fatal case of accidental oral formaldehyde poisoning and its pathomorphological characteristics. *International Journal of Legal Medicine*, *136*(5), 1303–1307. https://doi.org/10.1007/S00414-022-02821-1

Zhong-Feng, W., Mao-Yu, W., De-Hai, Y., Zhao, Y., Hong-Mei, X., Zhong, S., …. Hai-Jun, L. (2018). Therapeutic effect of chitosan on CCl4-induced hepatic fibrosis in rats. *Molecular Medicine Reports*, *18*(3), 3211–3218. https://doi.org/10.3892/MMR.2018.9343