

Pengaruh Ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. Varietas Argomulyo Terhadap Kadar Timbal Dalam Darah dan Gambaran Histologi Hepar Mencit Yang Terintoksikasi Timbal

Try Novia Jaya Ningsih

Farmasi

trynovia@gmail.com

Abstrak - Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo yang dibuat secara maserasi kinetik menggunakan pelarut metanol 90% terhadap kadar Pb dalam darah dan gambaran histologi hepar mencit yang terintoksikasi timbal dengan pembanding vitamin C. Pengujian dilakukan pada 25 ekor mencit jantan, yang dibagi kedalam lima kelompok yaitu plasebo, kontrol negatif, kontrol positif, uji dan pembanding. Semua kelompok diadaptasikan selama tujuh hari. Setelah itu diintoksikasi Pb dosis 25 mg/kg BB kecuali kelompok plasebo dan kontrol positif yang hanya diberi aquadem selama tujuh hari. Setelah proses intoksikasi dilanjutkan pemberian ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo dosis 6,45 mg ekstrak/mL pada kelompok kontrol positif dan 7,17 mg ekstrak/mL pada kelompok uji, vitamin C dosis 64 mg/kg BB pada kelompok pembanding, aquadem pada kelompok plasebo dan mucilago CMC Na 0,5% pada kelompok kontrol negatif selama tujuh hari. Dari hasil penelitian diperoleh ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo tidak efektif dalam menurunkan kadar Pb darah mencit yang telah terintoksikasi Pb namun ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo efektif dalam mengurangi kerusakan sel hepar mencit yang telah terintoksikasi Pb dibandingkan dengan vitamin C.

Kata kunci : *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo, Pb, gambaran histologi hepar, radikal bebas, vitamin C.

Abstract - Aim of this study was to see the effect of *Glycine max* (L.) Merr. Argomulyo variety extract that was made from kinetic maseration using metanol 90% towards lead concentration and histology image in the liver of mice with lead intoxication compared to vitamin C. The animals used for the experiments were 25 mice (*Mus musculus*) and divided into 5 group, placebo group, negative group, positive group, treatment group and comparator group. All groups were adapted to experiment environment for 7 days. After that all groups except placebo group and positive group were intoxicated with lead dose of 25 mg/kg BW for 7 days. After intoxication process, soybean extract was given to treatment group with dose 7,17 mg and to positive group with dose 6,45 mg for 7 days, Vitamin C was given to comparator group with dose 64 mg/kg BW for 7 days, aquadem was given to placebo group and mucilago CMC Na was given to negative group for 7 days. The result was *Glycine max* (L.) Merr. Argomulyo variety extract was not effective in reducing lead concentration in the liver of mice with lead intoxication but it was effective to reduce cell damage in the liver of mice with lead intoxication compared to vitamin C.

Keywords : *Glycine max* (L.) Merr. Argomulyo variety, plumbum, liver histology, reactive oxygen, vitamin C

PENDAHULUAN

Perkembangan ekonomi di Indonesia telah menitik beratkan kepada pembangunan sektor industri. Di satu sisi, pembangunan akan meningkatkan kualitas hidup manusia dengan meningkatnya pendapatan masyarakat. Tetapi di sisi lain, pembangunan juga bisa menurunkan kesehatan masyarakat dikarenakan pencemaran yang berasal dari limbah industri dan rumah tangga. Pesatnya pembangunan dan penggunaan berbagai bahan baku logam bisa berdampak negatif, salah satu logam berat yang dapat menimbulkan efek gangguan terhadap kesehatan manusia adalah timbal (Pb) (**Widowati et al., 2008**).

Pb di dalam darah dapat menyebabkan kerusakan berbagai organ termasuk organ hepar. Hal ini diakibatkan oleh kemampuan Pb untuk membentuk radikal bebas dalam tubuh serta menurunkan kemampuan antioksidan sehingga dengan sendirinya akan terjadi stres oksidatif. Selain itu dari berbagai penelitian diketahui bahwa Pb secara langsung dapat menimbulkan terjadinya gangguan dalam proses biokimia normal sistem hepatobilier dan dapat menyebabkan nekrosis sel hepar (**Santosa, 2005**).

Secara tidak langsung senyawa radikal bebas akan merusak sel sehingga menyebabkan terjadinya suatu penyakit. Penyakit-penyakit yang timbul karena pengaruh radikal bebas tersebut dapat dicegah bila tubuh memiliki penangkal atau peredam radikal bebas. Peredam radikal bebas ini berupa senyawa antioksidan. Kegunaan utama dari senyawa antioksidan adalah untuk menghentikan atau memutus reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat dalam tubuh (**Hernani, 2006**). Selain itu menurut **Pratt dan Hudson, 1990** serta **Shahidi dan Naczki, 1995** senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan seperti isoflavon juga dapat bereaksi sebagai pengkelat logam sehingga antioksidan ini dapat menurunkan kadar logam dalam darah.

Didalam tubuh sebenarnya sudah terdapat senyawa antioksidan yaitu berupa antioksidan enzimatis, seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, glutathion peroksidase (GSH-PX), serta glutathion reduktase (GSH-R) yang

berfungsi untuk meredam radikal bebas. Namun karena terjadi paparan yang terus-menerus menyebabkan antioksidan enzimatis tidak cukup mampu untuk meredam radikal bebas tersebut. Sehingga dibutuhkan antioksidan dari luar yaitu antioksidan sekunder yang dapat membantu peran antioksidan enzimatis dalam tubuh. Antioksidan sekunder ini berasal dari tanaman (**Winarsi, 2007**).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan adalah *Glycine max* (L.) Merr. atau biasa disebut kedelai yang mengandung isoflavon daidzein, genistein dan sejumlah kecil glycitein sebagai antioksidan (**Barnes, 2010**). Isoflavon banyak terdapat pada tanam-tanaman khususnya dari golongan *Leguminosae*, biji-bijian dan padi-padian, dari berbagai tanaman tersebut isoflavon paling banyak terdapat dalam *Glycine max* (L.) Merr. (**Winarsi, 2007**), dimana mengandung isoflavon berkisar antara 2-4 mg/g *Glycine max* (L.) Merr. (**Wahyuni, 2012**) sementara menurut **Koswara, 2005** kandungan isoflavon dalam 100 gram *Glycine max* (L.) Merr. utuh berkisar antara 130-380 mg. Menurut penelitian terdahulu telah dibuktikan bahwa ekstrak tempe yang berbahan baku *Glycine max* (L.) Merr. memiliki aktivitas antioksidan dan juga memiliki efek pada aktivitas enzim antioksidan dalam hepar (**Hu et al., 2004**). Sehingga dalam penelitian ini tanaman yang dipilih sebagai sumber antioksidan sekunder adalah *Glycine max* (L.) Merr..

Seperti yang telah diketahui kandungan isoflavon dari *Glycine max* (L.) Merr. itu bervariasi, perbedaan kandungan jumlah senyawa isoflavon ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Pertama, karakteristik dari senyawa isoflavon sendiri yang sangat reaktif dan mudah teroksidasi sehingga dimungkinkan sudah berikatan dengan senyawa lain menjadi senyawa baru. Kedua, beberapa penelitian melaporkan bahwa kandungan isoflavon pada kacang-kacangan dipengaruhi oleh varietas, waktu panen dan lokasi penanaman (**Mazur et al., 1998**), waktu tanam (**Aussenac et al., 1998**) dan kondisi iklim (**Tsukamoto et al., 1995**). Sehingga kondisi pertumbuhan, varietas, lokasi, dan waktu tanam membedakan jumlah senyawa isoflavon (**Harbone, 1996**). Dari faktor-faktor tersebut pada penelitian ini lebih berfokus kepada varietasnya, dimana varietas *Glycine max* (L.) Merr. yang dipilih adalah varietas Argomulyo. Dipilihnya varietas Argomulyo karena Argomulyo merupakan salah satu varietas unggul yang ada di Indonesia selain itu Argomulyo juga digunakan dalam kehidupan sehari-hari manusia sebagai bahan

baku susu kedelai (**Puslitbang Tanaman Pangan, 2007**).

Jadi diperlukan penelitian yang lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian ekstrak metanol *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo terhadap kadar timbal dalam darah dan gambaran histologi hepar mencit yang terintoksikasi timbal dan juga dibandingkan dengan vitamin C.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Biji *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo, metanol 90% (teknis), n-Heksan, CMC-Na, vitamin C (kadar 99,5% dari Fluka AG, *Chemische Fabril CH-9470 Busch SG*, p.a), Pb Asetat (p.a), eter, *Phosfat Buffer Solution* (PBS), formalin, Haematoxylin-Eosin (HE), paraffin dan aquadem.

Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : maserasi kinetik (*Stirring Motor* IKA Rw 20 N) dengan kecepatan pengadukan 10 rpm, *rotary evaporator* (BUCHI Rotavapor R-114), *water bath electric* (BUCHI Waterbath B-480), pengayak Mesh 20, timbangan, spektrofotometer Ultra Violet-Visible (UV-Vis), spektrofotometer *Atomic Absorbtion Spectroscopy* (AAS), kandang mencit beserta botol minum, mortir, stamper, timbangan hewan coba, zonde oral, *sputit* injeksi 1 mL, satu set alat bedah minor (untuk mengambil organ mencit), dan alat-alat gelas laboratorium.

Hewan Percobaan

Mencit (*Mus musculus*) strain BALB/C, jantan, dewasa, umur 10 minggu, berat badan 25-35 gram, sehat fisik dengan ciri-ciri bermata jernih, bulu mengkilap dan bergerak aktif.

Pembuatan Ekstrak Metanol *Glycine max* (L.) Merr. Varietas Argomulyo

Biji *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo digiling dengan blender. Serbuk yang telah didapatkan kemudian diayak dengan pengayak berukuran *mesh* 20. Serbuk *Glycine max* (L.) Merr. yang sudah diayak kemudian ditimbang

sebanyak 300 mg dan dimaserasi dengan n-heksan sebanyak 1 liter menggunakan alat maserasi kinetik selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan pendiaman selama 24 jam. Hasil pendiaman tersebut kemudian disaring ke dalam wadah penampung, sementara ampasnya diekstraksi kembali menggunakan n-heksan. Proses ini disebut remaserasi dan dilakukan sebanyak 4 kali. Proses ini dilakukan bertujuan untuk mengekstraksi minyak dari biji *Glycine max* (L.) Merr..

Tahap berikutnya adalah sisa ampas yang ada dikeringkan dengan cara di angin-anginkan, kemudian ampas kering dimaserasi menggunakan metanol 90% (teknis) sebanyak 1 liter menggunakan alat maserasi kinetik selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan pendiaman selama 24 jam. Hasil pendiaman kemudian disaring ke dalam wadah penampung, ampasnya lalu diremaserasi dengan cara yang sama sebanyak 3 kali. Hasil ekstraksi pertama, kedua, ketiga dan keempat dikumpulkan dalam 1 wadah. Kemudian ekstrak cair tersebut dipekatan menggunakan *rotary evaporator*. Pemekatan dilanjutkan dalam *water bath electric* sampai diperoleh ekstrak kental.

Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. Varietas Argomulyo

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan analisa kualitatif menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) pada ekstrak kental tersebut yang sebelumnya telah dilarutkan dengan aquadem. Fase diam yang digunakan adalah *silika gel 60 F₂₅₄* (Merck) dan fase gerak berupa campuran CHCl₃ : etilasetat (60:40). Ekstrak kental yang telah dilarutkan dengan aquadem lalu kandungan flavonoidnya ditarik oleh kloroform 10 mL dengan corong pisah, proses ekstraksi dilakukan 3 kali. Lalu fase kloroform yang mengandung flavonoid diuapkan hingga kurang lebih 5 mL. Fase kloroform yang telah pekat ditotolkan pada plat KLT sebanyak 3 kapiler dan 4 kapiler lalu diekspansi dengan fase gerak yang telah dibuat dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan sebelumnya. Dikatakan mengandung flavonoid apabila noda pada plat KLT dibawah sinar UV 365 nm menghasilkan fluoresensi biru dan bila noda diberi uap amoniak berubah menjadi noda berwarna kuning.

Pengkondisian dan Adaptasi Hewan Coba

Hewan coba dikondisikan selama kurang lebih tujuh hari sebelum perlakuan (**DirJen POM, 1991**). Seluruh mencit diberi pakan Poor 511 dan minum aquadem selama masa adaptasi. Ruang pemeliharaan memiliki suhu optimal $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ dan kelembaban relatif 30-70% dengan siklus penerangan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Selama masa adaptasi hewan coba yang digunakan harus sehat.

Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Setelah dipastikan normal hewan coba mencit yang digunakan sebanyak 25 ekor dikelompokkan secara acak ke dalam lima kelompok: kelompok plasebo, kelompok kontrol positif, kontrol negatif, kelompok uji, dan kelompok pembanding yang masing-masing terdiri dari 5 ekor mencit. Setiap mencit diberi Pb asetat dengan dosis 25 mg/kg BB/ oral/ mL/ hari dengan bantuan sonde selama 7 hari kecuali kelompok plasebo dan kontrol positif hanya diberi aquadem sebanyak 1 mL selama 7 hari sebagai pengganti Pb. Setelah melewati tahapan intoksikasi, hewan coba kemudian diberi perlakuan. Untuk kelompok placebo diberi aquadem sebanyak 1 mL selama 7 hari, kelompok kontrol negatif diberi suspensi mucilago CMC Na 0,5% sebanyak 1 mL selama 7 hari. Pada kelompok kontrol positif masing-masing mencit memperoleh suspensi ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo dengan dosis 6,45 mg ekstrak/mL, dan untuk kelompok uji masing-masing mencit memperoleh 7,17 mg ekstrak/mL. Sedangkan untuk kelompok pembanding masing-masing mencit memperoleh suspensi vitamin C dengan dosis 64 mg/Kg BB/ oral/ mL/ hari.

Setelah memperoleh seluruh perlakuan, masing-masing hewan coba kemudian dieutanasia dengan rute inhalasi menggunakan eter. Prosedur ini dilakukan dengan meletakkan hewan coba di dalam *chamber* yang telah dijenuhkan dengan eter.

Analisis Kadar Pb Dalam Darah Mencit

Darah mencit diambil melalui rute *intracardiac* menggunakan spuit injeksi 1,0 mL. Penentuan kadar Pb dilakukan pada akhir treatment (*end phase*) dengan

menggunakan *Atomic Absorbtion Spectroscopy* (AAS). Kadar Pb dinyatakan dalam satuan ppm (*part per million*).

Gambaran Histologi Hepar

Gambaran histologi hepar diamati melalui pengamatan preparat hepar pada jaringan hepatosit. Pengamatan dilakukan dengan melihat adanya sel yang diduga mengalami kerusakan sel, yang ditandai dengan inti sel yang berwarna hitam dan sitoplasma yang berwarna ungu karena terwarnai dengan *Hematoxylin-Eosin* (HE). Setelah pewarnaan jaringan hepar selesai, dilakukan proses pengamatan mikroskopis dengan menggunakan mikroskop cahaya. Pengamatan dilakukan dalam empat lapangan pandang yang berbeda dengan perbesaran 400 kali. Setiap lapangan pandang dilihat apakah ada sel yang mengalami nekrosis atau tidak.

$$\% \text{ Kerusakan Sel} = \frac{\text{Jumlah Sel Rusak}}{\text{Jumlah Sel Total}} \times 100\%$$

Teknik Analisis Data

Dari data penelitian yang didapatkan kemudian dianalisis statistik menggunakan metode *one way anova* ($\alpha = 0,05$). Perhitungan dilakukan dengan perangkat lunak SPSS versi 20. Jika ditemukan adanya perbedaan antar kelima kelompok tersebut maka dilakukan lagi tes lanjutan yaitu *post hoc test* (LSD) untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan bermakna antar kelompok uji satu dengan yang lain.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Bahan

Hasil identifikasi bahan adalah biji *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo yang telah tersertifikasi oleh UPBS (Unit Pengelolaan Benih Sumber) BALITKABI (Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian), Malang.

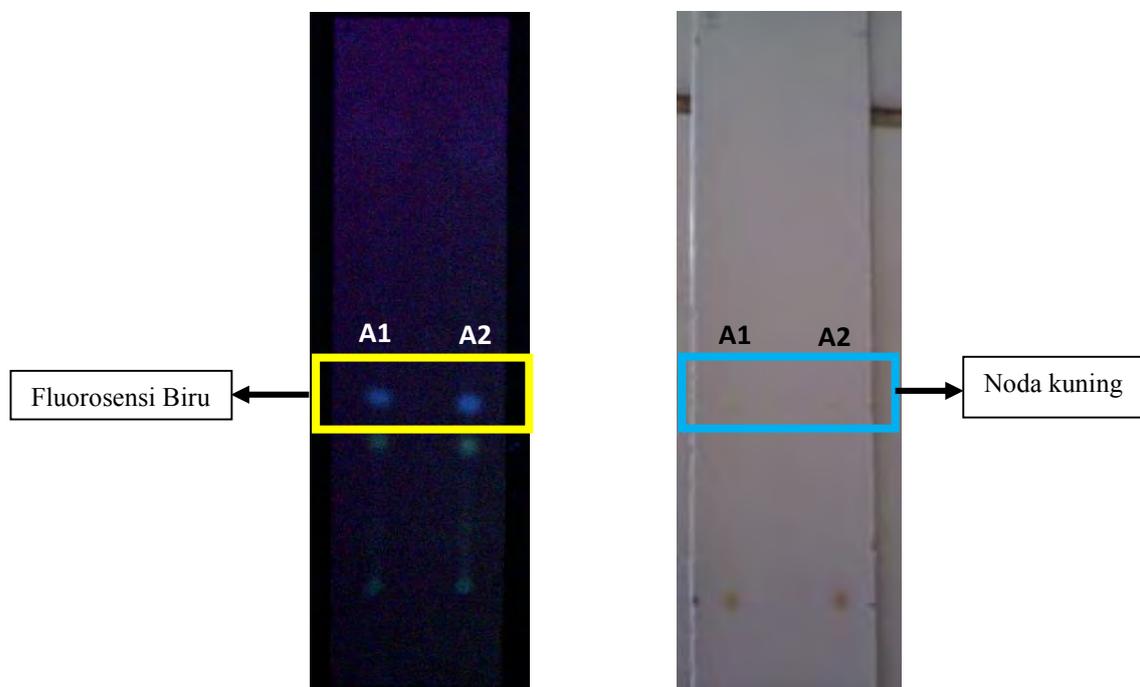
Hasil Ekstraksi Metanol Biji *Glycine max* (L.) Merr. Varietas Argomulyo

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Serbuk Biji *Glycine max* (L.) Merr. Varietas Argomulyo

Berat Cawan Kosong	Berat Serbuk Biji <i>Glycine max</i> (L.) Merr. Varietas Argomulyo	Berat Cawan yang Berisi Ekstrak Kental Biji <i>Glycine max</i> (L.) Merr. Varietas Argomulyo	Berat Ekstrak Kental Biji <i>Glycine max</i> (L.) Merr. Varietas Argomulyo
76,4716 gram	300 gram	104,4266 gram	27,9550 gram

Hasil Identifikasi Flavonoid Pada Ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. Varietas Argomulyo

Hasil identifikasi flavonoid setelah diekstraksi kemudian diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 365 nm diperoleh noda berfluoresensi biru. Kemudian hasil eluasi yang telah diamati tersebut diuapi dengan pereaksi uap amoniak dan didapatkan noda kuning, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo benar mengandung flavonoid secara kualitatif dengan metode KLT, hasil yang didapat ini telah sesuai dengan penelitian (Koswara, 1992;Asih, 2009) yang menyatakan bahwa pada *Glycine max* (L.) Merr. diketahui mengandung senyawa flavonoid golongan isoflavon.



X
Y
 Gambar 1. Hasil Identifikasi Flavonoid didalam Ekstrak
 Keterangan: X = Hasil fluoresensi pada sinar UV λ 365 nm
 Y = Hasil penampak noda yang diuapi amoniak
 A1 = Noda dari totolan pertama
 A2 = Noda dari totolan kedua

Tabel 2. Hasil Identifikasi Flavonoid didalam Ekstrak

Noda	Sinar UV λ 365 nm (X)	Uap Amoniak (Y)
A1	+ (fluorosensi biru)	+ (kuning)
A2	+ (fluorosensi biru)	+ (kuning)

Hasil Analisis Kadar Pb Pada Biji Dan Ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. Varietas Argomulyo

Analisis kadar Pb dalam biji dan ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer *atomic absorption spectrophotometry* (AAS). Hasil analisis kadar Pb pada biji *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo sebesar 0,14 ppm dan kadar Pb pada ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo sebesar 0,01 ppm.

Tabel 3. Hasil Analisis Kadar Pb Pada Biji dan Ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. Varietas Argomulyo Menggunakan AAS

No.	Nama Bahan	Kadar Pb dalam satuan ppm
1.	Biji <i>Glycine max</i> (L.) Merr. varietas Argomulyo	0,14
2.	Ekstrak <i>Glycine max</i> (L.) Merr. varietas Argomulyo	0,01

Adanya Pb dalam *Glycine max* (L.) Merr. ini dapat disebabkan karena tanah pertanian mengandung Pb yang dihasilkan dari pencemaran limbah Pb oleh manusia, baik limbah rumah tangga, industri, buangan gas kendaraan bermotor maupun pertanian sehingga Pb yang ada di dalam tanah akan diserap oleh akar tumbuhan dalam bentuk ion-ion yang larut dalam air (**Arisusanti dan purwani, 2013**). Selain itu dapat disebabkan oleh penggunaan pupuk fosfat, apabila pupuk tersebut digunakan secara terus menerus dengan dosis dan intensitas yang tinggi dapat meningkatkan Pb yang tersedia dalam tanah, sehingga meningkatkan serapan Pb oleh tanaman (**Priyadi et al., 2013**).

Hasil Analisis Kadar Pb Dalam Darah Mencit

Hasil analisis kadar Pb dalam darah mencit tersebut dapat dilihat pada tabel 4. Analisis statistik didapat nilai signifikansi sebesar 0,304 sehingga dapat disimpulkan dari kelima kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan kadar Pb yang bermakna. Kemudian dilakukan tes lanjutan *post hoc test* (LSD) didapatkan hasil yang signifikan hanya pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok

pembandingan, sedangkan pada kelompok yang lain tidak menunjukkan hasil yang signifikan.

Tabel 4. Hasil Analisis Kadar Pb dalam Darah Mencit (ppm)

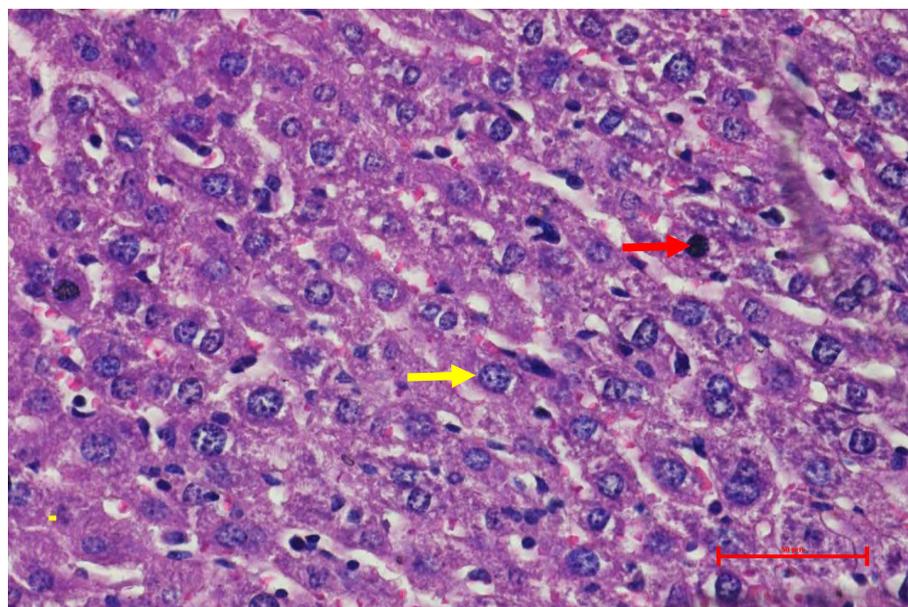
Placebo	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Kelompok Uji	Pembandingan
0,272	0,404	0,307	0,394	0,324
0,288	0,380	0,238	0,282	0,382
0,302	0,393	0,359	0,301	0,188
0,318	0,294	0,292	0,297	0,278
0,348	0,288	0,381	0,362	0,182
$\bar{x} = 0,306$	$\bar{x} = 0,352$	$\bar{x} = 0,315$	$\bar{x} = 0,327$	$\bar{x} = 0,271$
SD = 0,029	SD = 0,056	SD = 0,057	SD = 0,048	SD = 0,087

Hasil Analisis Histologi Hepar Mencit

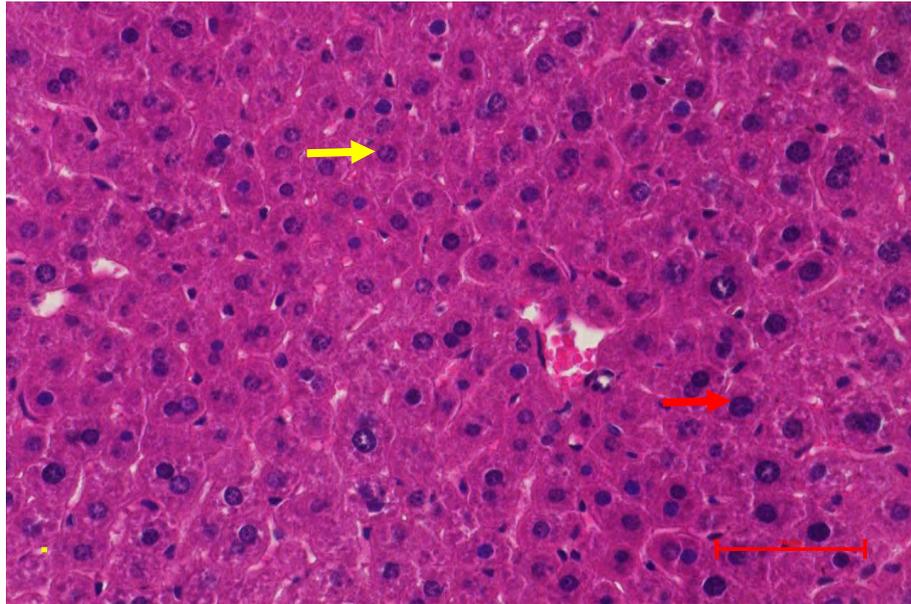
Hasil analisis histologi hepar pada kelima kelompok mencit tersebut dapat dilihat pada tabel 5 dan pada gambar 2 sampai gambar 6.

Tabel 5. Hasil Analisis Histologi Hepar Mencit (% Kerusakan Sel)

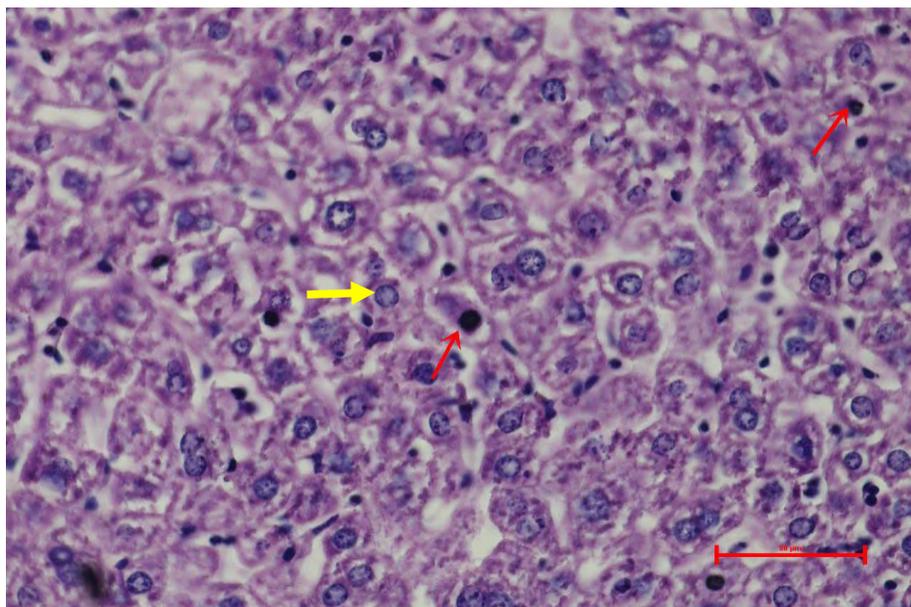
Placebo	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Kelompok Uji	Pembandingan
6,25	51,43	11,11	23,53	9,86
3,90	46,91	12,68	24,42	13,16
6,41	43,68	11,69	22,37	9,72
3,70	44,05	8,86	16,88	-
5,19	51,47	11,11	24,69	-
$\bar{x} = 5,09$	$\bar{x} = 49,508$	$\bar{x} = 11,09$	$\bar{x} = 22,378$	$\bar{x} = 10,913$
SD = 1,269	SD = 5,614	SD = 1,402	SD = 3,204	SD = 1,947



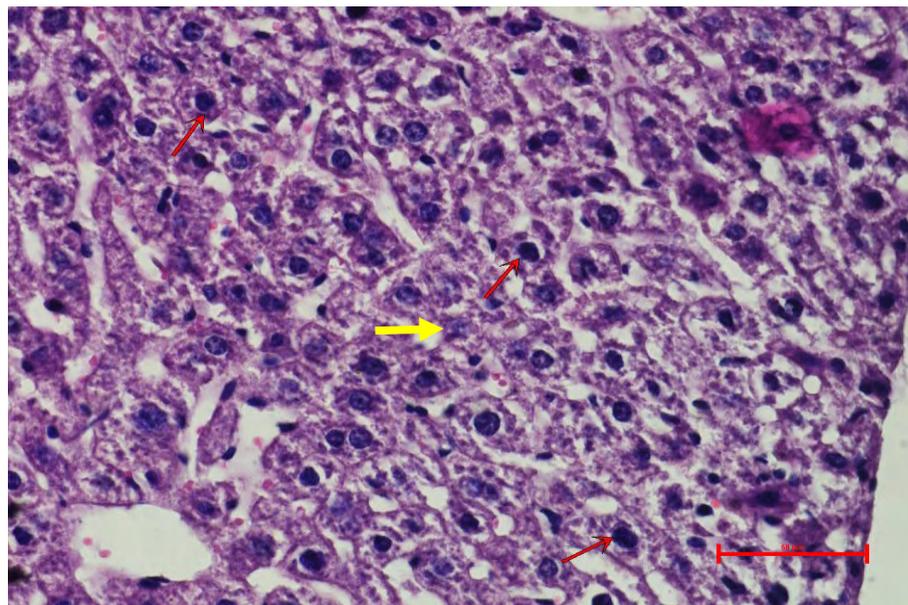
Gambar 2. Hasil pengamatan histologi sel hepar kelompok plasebo dengan pewarna HE (keterangan: \rightarrow = sel normal, \rightarrow = sel mengalami kerusakan, --- = skala 50 μm)



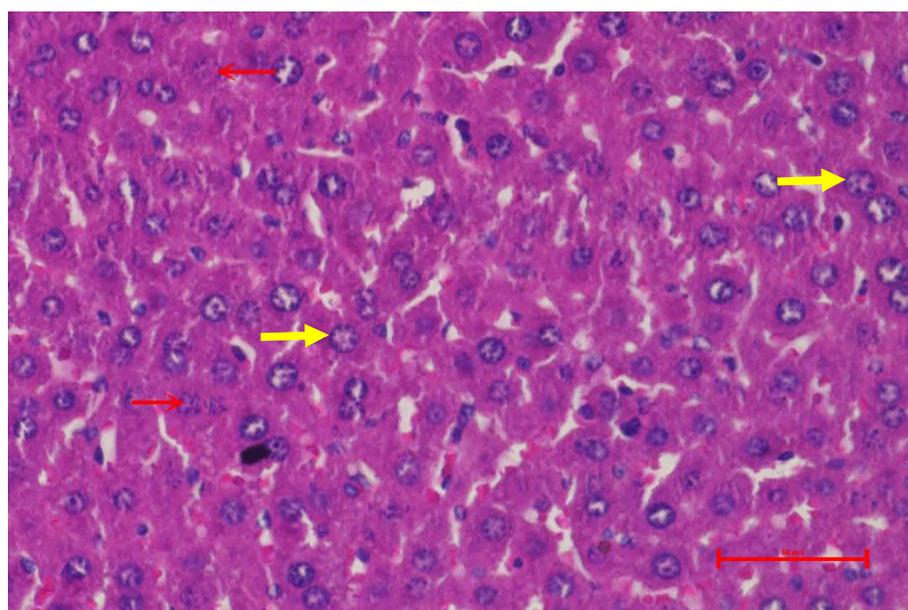
Gambar 3. Hasil pengamatan histologi sel hepar kelompok kontrol negatif dengan pewarna HE (keterangan:  = sel normal,  = sel mengalami kerusakan,  = skala 50 μm)



Gambar 4. Hasil pengamatan histologi sel hepar kelompok kontrol positif dengan pewarna HE (keterangan:  = sel normal,  = sel mengalami kerusakan,  = skala 50 μm)



Gambar 5. Hasil pengamatan histologi sel hepar kelompok uji dengan pewarna HE (keterangan: → = sel normal, → = sel mengalami kerusakan, = skala 50 μ m)



Gambar 6. Hasil pengamatan histologi sel hepar kelompok pembanding dengan pewarna HE (keterangan: → = sel normal, → = sel mengalami kerusakan, = skala 50 μ m)

Berdasarkan data di atas dilakukan analisis statistik menggunakan SPSS versi 20 dengan metode *One Way Anova*. Dari hasil *One Way Anova* antar kelompok diketahui signifikansi = 0,000 sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan persen kerusakan sel hepar yang bermakna antar kelima kelompok tersebut.

Setelah dilakukan *post hoc test multi comparison* LSD diperoleh hasil signifikansi antara kelompok plasebo dan kontrol negatif sebesar 0,000 hal ini menunjukkan adanya perbedaan persen kerusakan sel hepar yang signifikan antara kedua kelompok tersebut. Perbedaan yang signifikan ini dikarenakan pada kelompok kontrol negatif mencit diintoksikasi Pb sedangkan pada kelompok plasebo mencit tidak diintoksikasi Pb yang menyebabkan persentase hasil rata-rata kerusakan sel hepar pada kelompok kontrol negatif jauh lebih besar dibanding kelompok placebo.

Signifikansi antara kelompok plasebo dan kontrol positif sebesar 0,002 yang menunjukkan adanya perbedaan persen kerusakan sel hepar yang signifikan antara kedua kelompok tersebut. Hal ini terjadi karena kelompok positif yang diberi ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo didalam ekstrak tersebut pada hasil pemeriksaan kadar Pb pada ekstrak masih ditemukan kadar Pb yang dapat dilihat pada tabel 3 yang menyebabkan persen kerusakan sel hepar pada kelompok kontrol positif jauh lebih besar yaitu 11,09% dibandingkan persen kerusakan sel hepar pada kelompok placebo yaitu sebesar 5,09% yang hanya mendapat aquadem.

Signifikansi antara kelompok plasebo dan kelompok uji sebesar 0,000 sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan persen kerusakan sel hepar yang signifikan antara kedua kelompok tersebut. Perbedaan kerusakan sel hepar ini terjadi karena kelompok placebo hanya diberikan aquadem dan kelompok uji mendapatkan ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo setelah diintoksikasi Pb. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo belum mampu mengembalikan kondisi kerusakan sel hepar ke kondisi semula sebelum mencit diintoksikasi Pb. Hasil yang serupa juga diperoleh ketika membandingkan kelompok plasebo dengan kelompok pembanding yaitu ditunjukkan melalui signifikansi sebesar 0,007.

Hasil signifikansi antara kelompok kontrol negatif dan kontrol positif sebesar 0,000 sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan persen kerusakan sel hepar yang signifikan antara kedua kelompok tersebut. Hal ini terjadi karena kontrol negatif diintoksikasi Pb sementara kelompok kontrol positif tidak diintoksikasi Pb namun diberi ekstrak hal ini menyebabkan persen kerusakan sel

hepar pada kelompok kontrol negatif jauh lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Pada kelompok kontrol positif yang tidak diintoksikasi Pb masih terlihat adanya kerusakan sel hepar, hal ini karena mencit yang digunakan pada penelitian ini sebelumnya telah terjadi akumulasi Pb dalam tubuh mencit yang dapat di lihat dari nilai rata-rata kandungan Pb dalam darah kelompok plasebo (tabel 4) selain itu pada hasil pemeriksaan biji dan ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo masih ditemukan kadar Pb di dalamnya.

Signifikansi antara kelompok kontrol negatif dan kelompok uji sebesar 0,000 yang menunjukkan terdapat perbedaan persen kerusakan sel hepar yang signifikan antara kedua kelompok tersebut. Pada hasil rata-rata persen kerusakan sel hepar dapat dilihat bahwa persen kerusakan sel hepar kelompok uji lebih rendah dari kelompok kontrol negatif sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo efektif dalam mengurangi kerusakan sel hepar. Hal yang serupa juga diperoleh ketika membandingkan kelompok kontrol negatif dengan kelompok pembanding yaitu ditunjukkan melalui signifikansi sebesar 0,000. Hal ini menggambarkan efektifitas vitamin C dalam menurunkan kerusakan sel hepar. Persen kerusakan sel hepar pada mencit yang memperoleh vitamin C lebih rendah dibandingkan mencit yang hanya diberi mucilago, sehingga dapat dikatakan vitamin C efektif dalam mengurangi kerusakan sel hepar.

Kelompok uji dan kelompok pembanding menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai signifikansi 0,000. Dimana persen kerusakan sel hepar pada kelompok uji lebih besar dibandingkan pada kelompok pembanding hal ini menunjukkan bahwa vitamin C lebih efektif dalam mengurangi kerusakan sel hepar dibandingkan dengan ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo.

KESIMPULAN DAN SARAN

Ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo tidak efektif untuk menurunkan kadar Pb dalam darah mencit namun efektif dalam mengurangi kerusakan sel hepar pada mencit yang telah terintoksikasi Pb dibandingkan

dengan vitamin C. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengurangi kadar Pb dalam biji dan ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo.

DAFTAR PUSTAKA

- Arisusanti Ratna R, Purwani Kristanti Indah, 2013, Pengaruh Mikoriza *Glomus fasciculatum* terhadap Akumulasi Logam Timbal (Pb) pada Tanaman Dahlia pinnata, *JURNAL SAINS dan SENI POMITS*, Vol. 2, No.2, p.2337-3520
- Asih IAR Astiti, 2009, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon Dari Kacang Kedelai (*Glycine max*), *Jurnal Kimia*, Vol:3, No:1, p.33-40
- Aussenac, T. Lacombe, S. and Dayde, J. 1988. Quantification of Isoflavones by Capillary Zone Electrophoresis in Soybean Seeds : Effect of Variety and Environment. *Am. J. Clin. Nutr.* 68 (suppl), p.1480-1485.
- Barnes Stephen, P., 2010. Lymphatic Research and Biology, *The Biochemistry, Chemistry and Physiology of the Isoflavones in Soybeans and their Food Products*.
- Dirjen POM, 1991, *Prosedur Operasional Baku Uji Toksisitas*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan R. I., 1-26
- Harbone, J.B. 1996. *The Flavonoid : Advances in Research Since 1986*. Chapman & Hall, Inc. London.
- Hernani, Rahardjo M, 2006, *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*, Penebar Swadaya, Jakarta, 1-20.
- Hu, Chih-Chieh, Hsiao, Ching-Huang, et al, 2004, Antioxidant Activity of Fermented Soybean Extract, *J. Agric. Food Chem*, vol. 52, No. 18, pp 5735–5739
- Koswara. S, 1992, *Teknologi Pengolahan Kedelai*, Penerbit Pustaka Sinar Harapan, Jakarta.
- Koswara S., 2005. Isoflavon, Senyawa Multi-manfaat dalam Kedelai, *Department of Food Science and Technology*, IPB
- Mazur, W.M., J.A. Duke, K. Wahata, S. Rasku, and H. Adlercreutz. 1998. Isoflavonoids and Lignans in Legume : Nutritional and Health Aspects in Humans. *J Nutr Biochem* 9. 193-200.
- Pratt, D.E. and B.J.F. Hudson. 1990. *Natural Antioxidants not Exploited Commercially*. Di dalam : B.J.F. Hudson, editor. *Food Antioxidants*. Elsevier Applied Science. London
- Priyadi Spto, Darmaji Purnama, Santoso Umar, et al, 2013, *Khelasi Plumbum (Pb) dan Cadmium (Cd) Menggunakan Asam Sitrat Dari Biji Kedelai*, *AGRITECH*, Vol. 33, No. 4, 407-414
- Puslitbang Tanaman Pangan, 2007, *Daftar Varietas Unggul Kedelai Deskripsi Kedelai Varietas Argomulyo*, pangan.litbang.deptan.go.id, www.puslittan.bogor.net
- Santosa MH. 2005, Uji Toksisitas Akut Dan Subakut Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Air Kulit Batang *Artocarpus Champeden Spreng* Dengan Parameter Histopatologi Hati Mencit. *Majalah Farmasi Airlangga*, 91-95.
- Shahidi, F and M. Naczk. 1995. *Food Phenolics*. Technomic Pub. Co. Inc. Lavester-Basel.

- Tsukamoto C, Shimada S, Igita K, Kudou S, Kokubun M, Okubo K, and Kitamura K. 1995. *Factors Effecting Isoflavones Content in Soybean Seeds : Changes in Isoflavones, Saponins, and Compositon of Fatty Acids at Different Temperatures During Seed Development*. 43, p. 1184 – 1192.
- Wahyuni, Rika Sri, 2012, *Pengaruh Isoflavon Kedelai Terhadap Kadar Hormon Testosteron Berat Testis Diameter Tubulus Seminiferus dan Spermatogenesis Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus)*. Tesis. Program Studi Ilmu Biomedik.
- Widowati, Wahyu. Sastiono, Astiana. Jusuf, Raymond. 2008. *Efek Toksik Logam*. Bandung: Andi Yogyakarta.
- Winarsi H, 2007, *antioksidan alami dan radikal bebas : potensi dan apilikasinya dalam kesehatan*, kanisius, yogyakarta, 11-23, 77-82.