



**UJI AKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR TEPUNG KEDELAI
DALAM MENCEGAH PENINGKATAN KADAR SGOT DAN SGPT
TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI DIAZINON**

SKRIPSI

Oleh

**Toyibatul Hidayati
NIM 152010101135**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



**UJI AKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR TEPUNG KEDELAI
DALAM MENCEGAH PENINGKATAN KADAR SGOT DAN SGPT
TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI DIAZINON**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

oleh

**Toyibatul Hidayati
NIM 152010101135**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PERSEMBAHAN

1. Allah SWT atas segala nikmat, karunia, dan kesempatan yang membuat saya tidak berhenti bersyukur;
2. Nabi Muhammad SAW sebagai junjungan dan tauladan bagi saya;
3. Orang tua saya tercinta, Ibu Emmy Suhariya dan Bapak Syamsul Hidayat, serta kakak dan adik tersayang, Dakwatul Qodry Hidayati dan Syahrul Aliefi Hidayat yang selalu memberikan bimbingan, kasih sayang, dan doa tiada henti, serta pengorbanan yang dilakukannya setiap waktu;
4. Guru-guru saya yang luar biasa sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang telah memberikan ilmu dan mendidik saya dengan penuh kesabaran untuk menjadikan manusia yang berilmu dan bertakwa;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

Apabila apa yang di depan membuatmu takut, dan apa yang di belakang membuatmu luka, lihatlah ke atas. Allah tidak pernah gagal menolongmu. *)

Going the extra miles. Tidak menyerah dengan rata-rata. Kalau orang belajar 1 jam, dia akan belajar 5 jam, kalau orang berlari 2 kilo, dia akan berlari 3 kilo. Kalau orang menyerah di detik ke 10, dia tidak akan menyerah sampai detik 20. Lebihkan usaha, waktu, upaya, tekad, dan sebagainya dari orang lain. Yang memberi lebih akan diberi lebih. **)

*) Aisyah, D. 2018. *Awe-Inspiring Me*. Jakarta: Serambi.

**) Fuadi, A. 2009. *Negeri Lima Menara*. Jakarta: PT. Gramedia Pusat Utama.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Toyibatul Hidayati

NIM : 152010101135

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul “Uji Aktivitas Hepatoprotektor Tepung Kedelai dalam Mencegah Peningkatan Kadar SGOT dan SGPT Tikus Wistar yang Diinduksi Diazinon” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata pernyataan ini tidak benar.

Jember, 19 Agustus 2019

Yang menyatakan,



Toyibatul Hidayati
NIM 152010101135

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR TEPUNG KEDELAI
DALAM MENCEGAH PENINGKATAN KADAR SGOT DAN SGPT
TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI DIAZINON**

Oleh

Toyibatul Hidayati
NIM 152010101135

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed.

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Zahrah Febianti, M.Biomed.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Hepatoprotektor Tepung Kedelai dalam Mencegah Peningkatan Kadar SGOT dan SGPT Tikus Wistar yang Diinduksi Diazinon” karya Toyibatul Hidayati telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Senin, 19 Agustus 2019

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Ketua,


dr. Pulong Wijang Pralampita, Ph.D
NRP 760018009

Tim Penguji :

Anggota I,



dr. Adelia Handoko, M.Si
NIP 19890107 201404 2 001

Anggota II,



dr. Desie Dwi Wisudanti, M. Biomed
NIP 19821211 200812 2 002

Anggota III,



dr. Zahrah Febianti, M.Biomed
NIP 19880202 201404 2 001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember



dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA.

NIP 19730424 199903 1 002

RINGKASAN

Uji Aktivitas Hepatoprotektor Tepung Kedelai dalam Mencegah Peningkatan Kadar SGOT dan SGPT Tikus Wistar yang Diinduksi Diazinon; Toyibatul Hidayati, 152010101135; 2019; 93 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Keracunan pestisida merupakan salah satu dampak penggunaan pestisida di bidang pertanian yang beriringan dengan keuntungan yang didapatkannya. Pada tahun 2016 tercatat jumlah keracunan pestisida di Indonesia sebanyak 771 kasus dan sekitar 31,7% keracunan pestisida di Indonesia diakibatkan oleh pekerjaan. Golongan pestisida yang banyak digunakan digunakan oleh petani ialah golongan organofosfat, salah satunya ialah diazinon. Diazinon akan mengalami bioaktivasi di jaringan hepar membentuk *diazoxon*. *Diazoxon* merupakan senyawa prooksidan dan memiliki mekanisme penghambatan AChE yang lebih kuat dibandingkan senyawa induknya. Senyawa ini akan menyebabkan akumulasi ROS yang mengarah pada stres oksidatif dan apoptosis. Hal ini dapat menyebabkan kerusakan hepatoselular sehingga terjadi pelepasan enzim Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) dan Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT).

Minimnya pengetahuan petani dalam pemanfaatan diazinon dapat menyebabkan hepatotoksisitas, sehingga dibutuhkan senyawa hepatoprotektor sebagai antioksidan dan antiapoptosis seperti isoflavon dan beta karoten. Senyawa ini bekerja menghambat pembentukan senyawa radikal bebas dan pelepasan sitokrom c ke sitoplasma pada mekanisme apoptosis. Kedua senyawa tersebut terkandung dalam kacang kedelai, kandungan senyawa antioksidan dan antiapoptosis kedelai yang tertinggi terdapat dalam sediaan tepung kedelai dibandingkan olahan kedelai lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas hepatoprotektor tepung kedelai terhadap kadar SGOT dan SGPT tikus wistar yang diinduksi diazinon.

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental semu dengan *post test only randomized control group design*. Sampel yang digunakan yaitu 30 ekor *Rattus norvegicus* galur wistar jantan, berusia 12-16 minggu dengan berat badan 150-300 gram. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kontrol normal (K_n) dengan pemberian normal salin selama 33 hari, kontrol negatif ($K_{(-)}$) dengan pemberian normal salin selama 28 hari dan diazinon 5 hari, dan 3 kelompok pemberian tepung kedelai K_1 , K_2 , dan K_3 yang masing masing diberikan dosis 10%, 15%, dan 20% selama 28 hari dilanjutkan dengan diazinon selama 5 hari. Nilai SGOT dan SGPT diperiksa menggunakan DIALAB kit dengan metode pemeriksaan kinetik IFCC menggunakan panjang gelombang 340 nm. Analisis homogenitas dan normalitas data dilakukan dengan uji *Levene* dan uji *Shapiro Wilk*. Data selanjutnya diuji beda dengan menggunakan uji *One Way Anova* dan uji *Post Hoc LSD*.

Hasil penelitian ini menunjukkan proses penepungan sebanyak 2 kg kacang kedelai menghasilkan rendemen tepung sejumlah 1 kg. Jumlah kebutuhan tepung kedelai untuk diberikan kepada hewan coba ialah 756 gram. Hasil pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT didapatkan dalam satuan U/L. Hasil pengukuran kadar SGOT didapatkan rerata sebagai berikut: K_n $81,763 \pm 4,994$; $K_{(-)}$ $126,274 \pm 9,159$; K_1 $106,114 \pm 5,133$; K_2 $92,275 \pm 4,559$; K_3 $82,853 \pm 2,957$; dan hasil pengukuran kadar SGPT didapatkan rerata sebagai berikut: K_n $41,586 \pm 1,524$; $K_{(-)}$ $55,4 \pm 2,008$; K_1 $50,524 \pm 2,253$; K_2 $45,716 \pm 1,834$; K_3 $43,864 \pm 2,054$. Hasil uji statistik pada kadar SGOT dan SGPT menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok yang diberikan tepung kedelai dengan kontrol negatif. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) memiliki aktivitas hepatoprotektor melalui pencegahan peningkatan kadar SGOT dan SGPT tikus wistar yang diinduksi diazinon.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan yang skripsi berjudul “Uji Aktivitas Hepatoprotektor Tepung Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Wistar yang Diinduksi Diazinon”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Universitas Jember dan mencapai gelar sarjana kedokteran.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada pihak-pihak sebagai berikut:

1. almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Supangat, M.Kes, Ph.D, Sp.BA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
3. dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed. selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Zahrah Febianti, M.Biomed. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Pulong Wijang Pralampita, Ph.D dan dr. Adelia Handoko, M.Si selaku dosen penguji atas segala saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Mbak Lilik Maslian, A.Md selaku analis Laboratorium Farmakologi FK UNEJ, Mbak Nurul Istinaroh, A.Md selaku analis Laboratorium Biokimia FK UNEJ, dan Mas Agusmurdojohadi, A.Md selaku analis Laboratorium Hewan Coba FKG UNEJ atas bantuan yang diberikan selama penelitian berlangsung;
6. seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas bimbingan dan bantuannya selama menjadi mahasiswa;

7. orangtua tercinta, Ibu Emmy Suhariya dan Ayah Syamsul Hidayat. yang tidak pernah berhenti mengirimkan doa, dukungan, bimbingan, kasih sayang, serta pengorbanan selama ini;
8. Kakak Dakwatul Qodry Hidayati dan Adik Syahrul Aliefi Hidayat tersayang yang selalu memberikan semangat dan kasih sayang selama ini;
9. rekan kerja seperjuangan dalam penelitian, Mbak Verantika Indra Susetiyo, Mbak Sofi Aliyatul Himah, Tegar Syaiful Qodar, dan Firman Herdiana, terimakasih atas kerja sama dan bantuan serta semangat yang diberikan selama penelitian;
10. sahabat-sahabat tercinta Gusfita Trisna Ayu Putri, Rezza Putri Mahartika, Khanif Muflikhatun, Haqiqotul Fikriyah, Kamila Rahma, Dina Ayu Savitri, Arista Prima Nugrahani, Farmarida Dika Rufaida, Ilhafatul Hawadah, Mbak Mega Citra Prameswari, Mbak Fadiah Ulfa Khairina, dan keluarga besar Coccyx 2015 yang selalu memberikan semangat, dukungan, dan bantuan selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
11. sahabat-sahabat semasa sekolah penulis Cinka Dyas Zattira, Mareta Praharian Nugrahanti, Niendya Kinofa Sasmita, Husnul Khotimah, Hutssy Elya Nadyana, Rafika Dwi Ilhami atas semangat dan dukungan yang selalu diberikan sejak masa sekolah sampai sekarang;
12. semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terimakasih atas segala doa, bantuan, dan kerjasamanya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 19 Agustus 2019

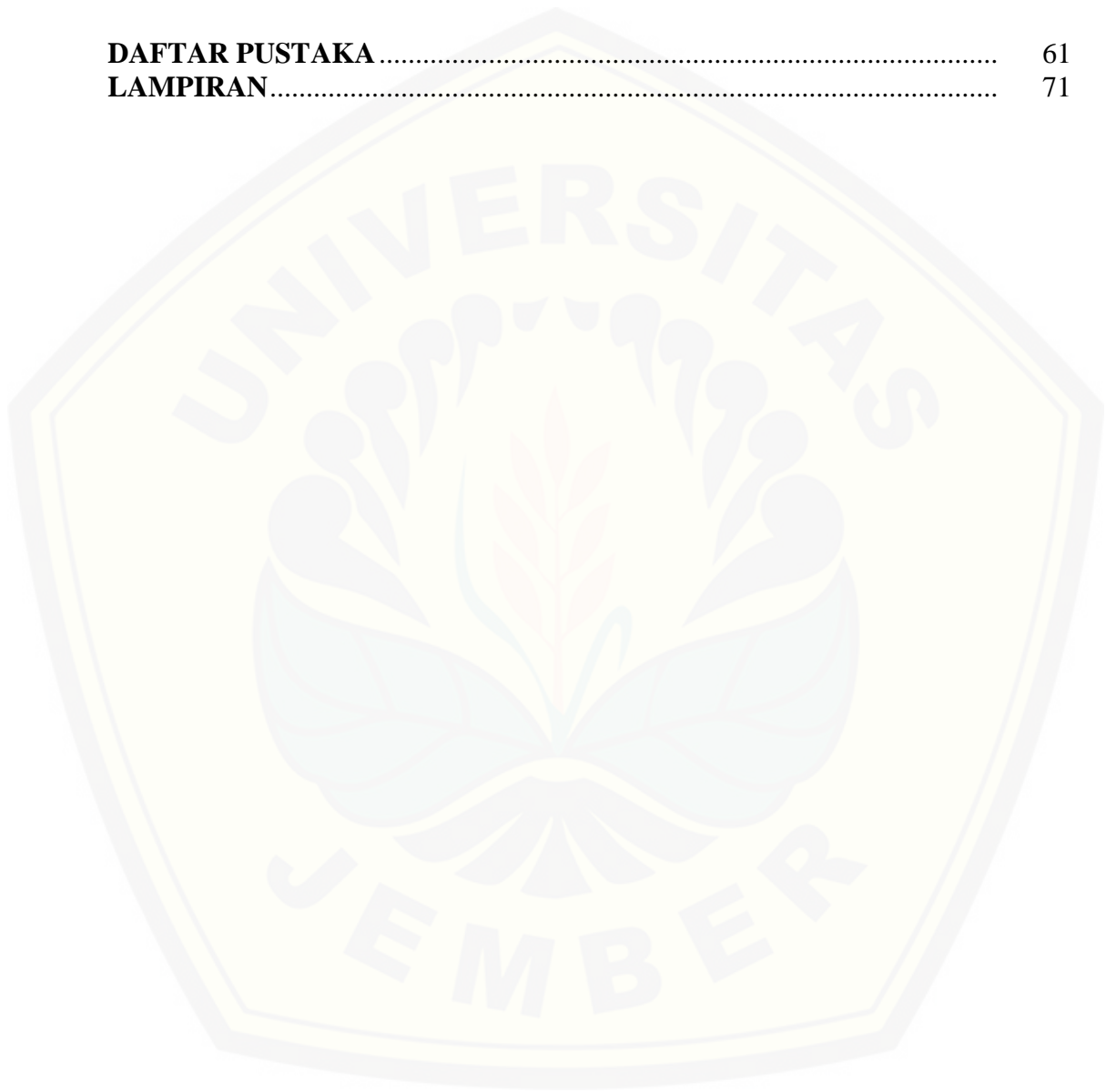
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.4.1 Manfaat Keilmuan	3
1.4.2 Manfaat Aplikatif	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pestisida	5
2.1.1 Definisi Pestisida	5
2.1.2 Penggolongan Pestisida	5
2.2 Diazinon	7
2.2.1 Definisi Diazinon	7
2.2.2 Batas Maksimum Residu (BMR) Diazinon	7
2.2.3 Sifat Fisik dan Kimia Diazinon	8
2.2.4 Metabolisme Diazinon	9
2.2.5 Toksisitas Diazinon	10
2.2.6 Patomekanisme Hepatotoksisitas Diazinon	13
2.3 Hepar	16
2.3.1 Anatomi Hepar	16
2.3.2 Fisiologi Hepar	18
2.3.3 Pemeriksaan Laboratorium Hepar	20
2.4 Enzim Aminotransferase	22
2.4.1 Definisi	22
2.4.2 Enzim Aminotransferase sebagai Penanda Kerusakan Hepar	23
2.4.3 Pemeriksaan Kadar SGOT dan SGPT	24

2.5 Hepatoprotektor	25
2.5.1 Definisi Hepatoprotektor	25
2.5.2 Pengaruh Hepatoprotektor terhadap Kadar SGOT dan SGPT	26
2.6 Kacang Kedelai (<i>Glycine max</i> (L.) Merr.)	26
2.6.1 Definisi Kacang Kedelai	26
2.6.2 Olahan Kacang Kedelai	27
2.6.3 Kandungan Kacang Kedelai	27
2.6.4 Senyawa Antioksidan dan Antiapoptosis dalam Kacang Kedelai	30
2.7 Tepung Kedelai	31
2.7.1 Definisi Tepung Kedelai	31
2.7.2 Kandungan dalam Tepung Kedelai	32
2.7.3 Metode Penepungan	33
2.8 Kerangka Teori	34
2.9 Kerangka Konsep	36
2.10 Hipotesis Penelitian	37
BAB 3 METODE PENELITIAN	38
3.1 Jenis Penelitian	38
3.2 Rancangan Penelitian	38
3.3 Hewan Coba	39
3.4 Tempat dan Waktu Penelitian	40
3.5 Variabel Penelitian	40
3.5.1 Variabel Bebas	40
3.5.2 Variabel Terikat.....	41
3.5.3 Variabel Terkendali.....	41
3.6 Definisi Operasional	42
3.6.1 Tepung Kedelai	42
3.6.2 Kadar SGOT dan SGPT	42
3.6.3 Diazinon	42
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	43
3.7.1 Alat Penelitian	43
3.7.2 Bahan Penelitian.....	43
3.8 Prosedur Penelitian	44
3.8.1 Uji Kelayakan Etik	44
3.8.2 Perawatan Hewan Coba.....	44
3.8.3 Terminasi Hewan Coba	45
3.8.4 Pembuatan Tepung Kedelai.....	46
3.8.5 Pemberian Tepung Kedelai	47
3.8.6 Penginduksian Diazinon.....	47
3.8.7 Pemeriksaan SGOT dan SGPT	47
3.9 Analisis Data	48
3.10 Alur Penelitian	49
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	50
4.1 Hasil Penelitian	50
4.1.1 Rendemen Tepung Kedelai	50

4.1.2 Hasil Pemeriksaan Kadar SGOT	50
4.1.3 Hasil Pemeriksaan Kadar SGPT	52
4.2 Pembahasan	53
BAB 5 PENUTUP	60
5.1 Kesimpulan	60
5.2 Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN.....	71



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Batas maksimum residu diazinon	8
2.2 Kandungan nutrien dalam kacang kedelai	29
2.3 Perbandingan kandungan gizi kedelai lokal bahan matang	29
2.4 Kandungan isoflavon pada tepung kedelai dan kedelai	32
3.1 <i>Time table</i> persiapan perlakuan hewan coba.....	40
3.2 <i>Time table</i> perawatan dan perlakuan hewan coba.....	40
3.3 <i>Time table</i> pengambilan dan analisis data.....	40
3.4 Pembagian kelompok perlakuan	46
4.1 Rerata hasil pemeriksaan kadar SGOT pada masing-masing kelompok.....	50
4.2 Hasil LSD kadar SGOT.....	52
4.3 Rerata hasil pemeriksaan kadar SGPT pada masing-masing kelompok.....	52
4.4 Hasil LSD kadar SGPT	53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur kimia diazinon.....	9
2.2 Biotransformasi diazinon oleh sitokrom P450.....	10
2.3 Skema pembentukan <i>Nitric oxide</i> (NO).....	14
2.4 Skema apoptosis.....	16
2.5 Anatomi hepar dan susunannya dalam viscera abdominalis.....	17
2.6 Lobulus, hepatosit dan sinusoid, trias porta pada hepar.....	18
2.7 Reaksi transaminasi oleh SGOT dan SGPT.....	22
2.8 Donor ion hidrogen oleh senyawa flavonoid.....	31
2.9 Kerangka teori.....	34
2.10 Kerangka konsep.....	36
3.1 Skema rancangan penelitian.....	38
3.2 Skema pembuatan tepung kedelai.....	45
3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba.....	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Surat Keterangan Persetujuan Etik	71
3.2 Rekomendasi KOMBI.....	74
3.3 Determinasi Tepung Kedelai	75
3.4 Pembuatan Tepung Kedelai	78
3.5 Daftar Volume Maksimal Larutan Sediaan yang Dapat Diberikan pada Hewan Coba	79
3.6 Pengenceran Diazinon.....	80
3.7 Tabel Dosis Diazinon	81
3.8 Terminasi Hewan Coba.....	82
3.9 Pemeriksaan SGOT	83
3.10 Pemeriksaan SGPT	84
4.1 Data Kadar SGOT	85
4.2 Hasil Uji Statistik Kadar SGOT	86
4.3 Data Kadar SGPT	88
4.4 Hasil Uji Statistik Kadar SGPT	89
4.5 Dokumentasi Penelitian	91

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesterase
AGC	: <i>American Gastroenterology College</i>
ALP	: Alkalin Fosfatase
APAF-1	: <i>Apoptotic Protease-Activating Factor 1</i>
APD	: Alat Pelindung Diri
ATP	: Adenosin Trifosfat
ATSDR	: <i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i>
DDT	: Dikloro difenil trikloroetana
DEP	: Dietilfosfat
DETP	: Dietiltiofosfat
DISC	: <i>Death Inducing Signalling Complex</i>
Ditjen PSP	: Direktorat Jenderal Prasarana dan Sarana Pertanian
DNA	: <i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
GSH	: <i>Glutathione</i>
GSNO	: <i>S-nitrosoglutathione</i>
GR	: <i>Glutathione reductase</i>
IFCC	: <i>The International Federation of Clinical Chemistry</i>
IMHP	: <i>2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine</i>
MDA	: Malondialdehid
NO	: <i>Nitric oxide</i>
PT pore	: <i>Permeability Transition pore</i>
PUFA	: <i>Poliunsaturated Fatty Acid</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SGOT	: Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase
SGPT	: Serum Glutamat Piruvat Transaminase
SOD	: <i>Super Oxide Dismutase</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Science</i>
SSP	: Sistem Saraf Pusat
TG	: Trigliserida
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara agraris yang sebagian besar penduduknya bermata pencaharian sebagai petani. Produktivitas hasil pertanian di Indonesia mengalami peningkatan sejak tahun 1970 melalui program Revolusi Hijau. Program ini diterapkan melalui empat pilar, yaitu pemilihan dan penggunaan varietas unggul, pemakaian pupuk kimia, pengairan, dan penggunaan pestisida (Irawan dan Ariningsih, 2015). Pestisida memiliki efektivitas dalam pengendalian hama sehingga diharapkan dapat meningkatkan kualitas dan kuantitas hasil pertanian (Priyanto *et al.*, 2009). Keuntungan tersebut tidak terlepas dari efek buruknya seperti risiko keracunan akibat residu pestisida dalam lingkungan (Rusdita, 2016). Jumlah keracunan pestisida di Indonesia pada tahun 2016 tercatat sebanyak 771 kasus, dan diperkirakan 31,7% keracunan pestisida di Indonesia diakibatkan oleh pekerjaan (WHO, 2001; Sentra Informasi Keracunan Nasional, 2016).

Organofosfat merupakan golongan pestisida yang banyak digunakan karena toksisitasnya yang tinggi dalam membasmi hama tanaman. Golongan ini memiliki toksisitas yang tinggi dengan persistensi di lingkungan yang rendah (Azis, 2011). Efek toksik akibat paparan organofosfat terjadi pada organisme target maupun *non*-target. Toksisitas tersebut terjadi akibat penghambatan enzim asetilkolinesterase (AChE) yang menyebabkan peningkatan aktivitas kolinergik sentral dan perifer (Terry, 2012). Gejala keracunan pada petani yang menggunakan organofosfat dalam pekerjaannya dilaporkan dalam beberapa studi, Aribowo *et al.*, (2016) menyatakan bahwa 32,9% petani pengguna organofosfat di Kabupaten Jember mengalami gejala keracunan (Priyanto *et al.*, 2009; Aribowo *et al.*, 2016).

Salah satu jenis insektisida golongan organofosfat yang banyak digunakan oleh petani adalah diazinon. Diazinon termasuk dalam kelas fosforotionat dari organofosfat, senyawa penghambat AChE lemah yang akan meningkatkan toksisitasnya setelah teraktivasi menjadi senyawa *oxon*-nya (Wu *et al.*, 1996;

Moshiri *et al.*, 2013). Toksikokinetik diazinon akan menyebabkan kerusakan di berbagai jaringan terutama pada jaringan hepar, organ yang berfungsi sebagai detoksifikasi dan merupakan lokasi bioaktivasi diazinon membentuk *diazoxon* (ATSDR, 2008; Lari *et al.*, 2013).

Diazoxon memiliki peranan utama dalam menyebabkan hepatotoksitas melalui penghambatan enzim AChE, peningkatan agen radikal bebas yang menginduksi stres oksidatif, dan apoptosis (Lari *et al.*, 2013; Martin-Reina *et al.*, 2017). Hal ini menyebabkan kerusakan hepatosit sehingga terjadi pelepasan enzim transaminase ke peredaran darah dan meningkatkan kadar Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) dan Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) (Kalender *et al.*, 2005; Nugraha *et al.*, 2008; Lari *et al.*, 2013). Kerusakan jaringan oleh *diazoxon* juga dapat bermanifestasi pada peningkatan kadar alkali fosfatase (ALP), malondialdehid (MDA), serta penurunan kadar glutathion (GSH), aktivitas *superoxide dismutase* (SOD), dan katalase (Galli *et al.*, 2002; Zhao *et al.*, 2015; Okafor dan Ebuehi, 2016).

Minimnya pengetahuan petani dalam penggunaan diazinon yang tepat dosis dan cara penggunaan memungkinkan timbulnya efek hepatotoksitas terhadap pekerja pertanian, sehingga dibutuhkan senyawa hepatoprotektor. Senyawa hepatoprotektor yang dapat diberikan ialah senyawa dengan aktivitas antioksidan dan antiapoptosis seperti isoflavon dan beta karoten. Keduanya bekerja menghambat produksi agen radikal bebas dan pelepasan sitokrom c ke sitoplasma pada mekanisme apoptosis (Sarada *et al.*, 2002; Foti *et al.*, 2005; Song *et al.*, 2015). Senyawa tersebut terkandung dalam kacang kedelai (Kandlakunta *et al.*, 2008; Al-Ashaal *et al.*, 2012). Berbagai olahan kedelai banyak dijumpai dalam kehidupan sehari-hari seperti tempe, tahu, kecap, dan tepung kedelai. Kandungan senyawa antioksidan dan antiapoptosis kedelai tertinggi terdapat dalam sediaan tepung kedelai dibandingkan sediaan olahan lainnya (Bhagwat *et al.*, 2008).

Sampai saat ini, penelitian mengenai efektivitas tepung kedelai sebagai hepatoprotektor pada organisme yang terinduksi diazinon masih terbatas. Oleh karena itu, peneliti akan menguji aktivitas hepatoprotektor tepung kedelai dalam

mencegah peningkatan kadar SGOT dan SGPT tikus wistar yang diinduksi diazinon.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini antara lain sebagai berikut.

- a. Apakah aktivitas hepatoprotektor tepung kedelai dapat mencegah peningkatan kadar SGOT tikus wistar yang diinduksi diazinon?
- b. Apakah aktivitas hepatoprotektor tepung kedelai dapat mencegah peningkatan kadar SGPT tikus wistar yang diinduksi diazinon?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini ialah sebagai berikut.

- a. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas hepatoprotektor tepung kedelai dalam mencegah peningkatan kadar SGOT tikus wistar yang diinduksi diazinon.
- b. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas hepatoprotektor tepung kedelai dalam mencegah peningkatan kadar SGPT tikus wistar yang diinduksi diazinon.

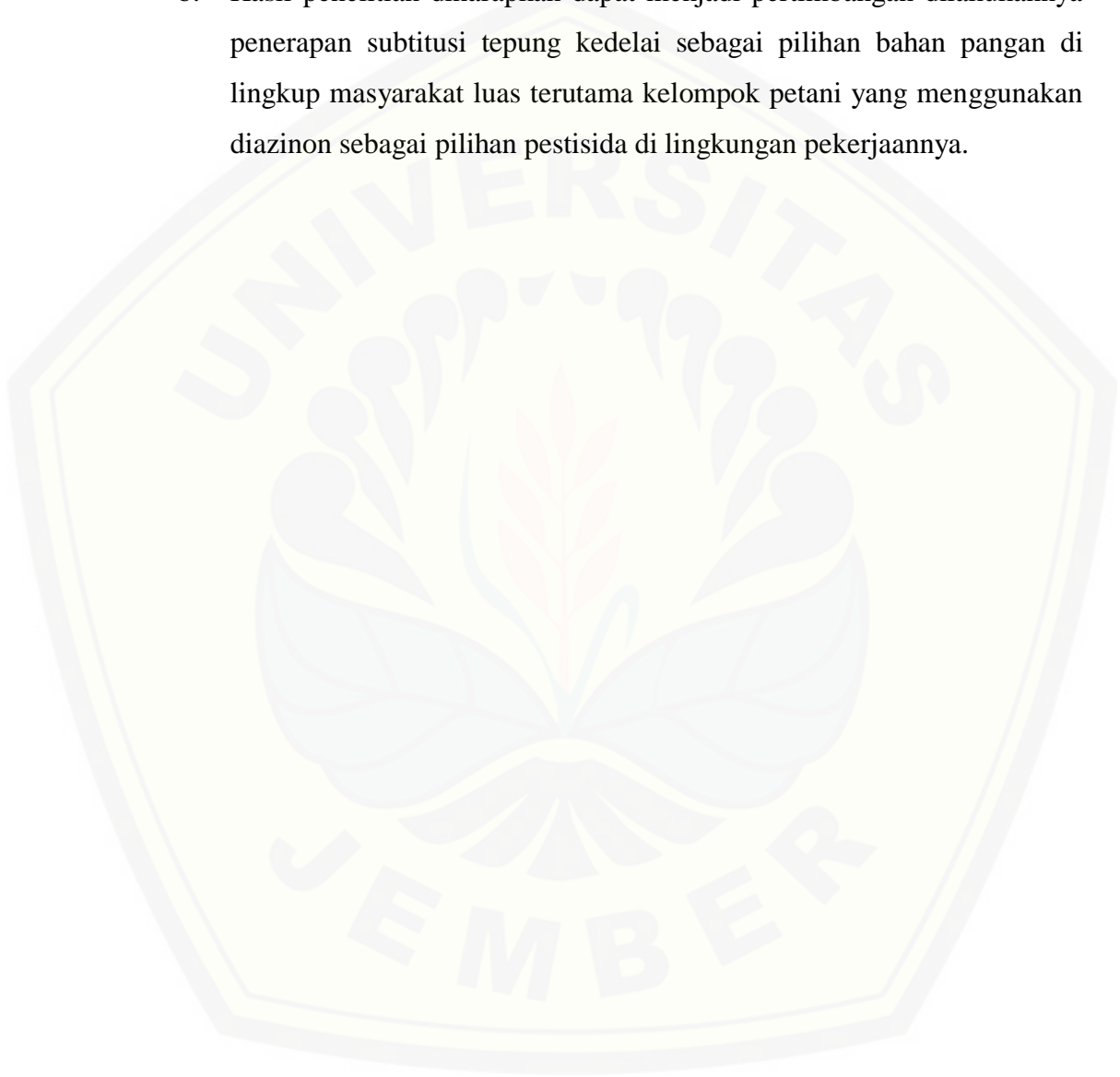
1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Keilmuan

- a. Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai wawasan pengetahuan dan dapat digunakan sebagai referensi dalam pengembangan bidang ilmu toksikologi kedokteran.
- b. Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan pertimbangan bagi para peneliti untuk mengembangkan penelitian lebih lanjut terkait kandungan antioksidan dan antiapoptosis dalam tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) sebagai hepatoprotektor pada organisme yang terinduksi diazinon.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

- a. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat dijadikan pertimbangan untuk regulasi distribusi diazinon di lingkup pertanian oleh para pemegang kebijakan.
- b. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi pertimbangan dilakukannya penerapan substitusi tepung kedelai sebagai pilihan bahan pangan di lingkup masyarakat luas terutama kelompok petani yang menggunakan diazinon sebagai pilihan pestisida di lingkungan pekerjaannya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pestisida

2.1.1 Definisi Pestisida

Pestisida adalah substansi kimia yang digunakan pada wilayah pertanian sebagai upaya untuk mengendalikan hama perusak tanaman. Organisme sasaran penggunaan pestisida antara lain serangga, organisme penyebab penyakit tanaman dan gulma, serta organisme lain seperti golongan nematoda, artropoda selain serangga, dan vertebrata yang dapat mengganggu proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Penggunaan pestisida bertujuan untuk melindungi petani dari kehilangan hasil produksi pertanian dan pengurangan kualitas produk tanaman. Penggunaan pestisida memiliki peranan yang penting baik dari segi kuantitas maupun kualitas hasil produksi pertanian, sehingga penggunaannya dianggap menguntungkan bagi para petani (Damalas, 2009).

2.1.2 Penggolongan Pestisida

Balai Penelitian Tanaman Sayuran (Balitsa) Bandung mengelompokkan pestisida menjadi empat golongan besar berdasarkan mekanisme kerjanya, antara lain golongan organoklorin, karbamat, piretroid, dan organofosfat (Hudayya dan Jayanti, 2012).

a. Golongan organoklorin

Organoklorin merupakan senyawa pestisida sintetik. Senyawa ini mudah diabsorpsi melalui oral, inhalasi, maupun transdermal dan akan dimetabolisme pada sistem enzim mikrosomal hepatic melalui deklorinasi, oksidasi, dan konjugasi. Organoklorin bersifat stabil dan persisten di lingkungan, residunya sangat sulit terurai sehingga dilarang penggunaannya oleh Kementerian Pertanian (Isnawati dan Mutiatikum, 2005; Hudayya dan Jayanti, 2012; Setiati *et al.*, 2014).

b. Golongan karbamat

Golongan karbamat merupakan insektisida spektrum luas, senyawa ini bekerja seperti organofosfat melalui penghambatan enzim AChE

pada sistem saraf. Perbedaannya dengan organofosfat yakni strukturnya yang tidak mudah mencapai sistem saraf pusat (SSP) dan ikatannya dengan AChE yang bersifat reversibel (Hudayya dan Jayanti, 2012; Setiati *et al.*, 2014).

c. Golongan piretroid

Pestisida golongan piretroid bersifat lipofilik sehingga cepat terdistribusi sampai ke SSP. Senyawa ini terikat pada suatu protein dalam saraf yang disebut *voltage-gated sodium channel*. Ikatan piretroid dengan protein tersebut menyebabkan rangsangan saraf berkelanjutan yang mengakibatkan tremor dan gerakan inkoordinasi pada serangga (Hudayya dan Jayanti, 2012; Setiati *et al.*, 2014).

d. Golongan organofosfat

Golongan organofosfat merupakan insektisida yang bekerja melalui penghambatan enzim AChE. Secara normal enzim tersebut akan menghidrolisis *neurotransmitter* asetilkolin (ACh) membentuk asetat dan kolin. Penghambatan kerja enzim tersebut menyebabkan penumpukan ACh yang akan berikatan dengan reseptor muskarinik dan nikotinik pada sistem saraf dan mengganggu sistem penghantaran impuls saraf ke sel-sel otot. Keadaan ini menyebabkan impuls tidak dapat diteruskan, otot menjadi kejang, dan terjadi kelumpuhan (paralisis) hingga kematian pada serangga (Hudayya dan Jayanti, 2012). Senyawa golongan ini diabsorpsi melalui paru-paru, saluran cerna, kulit, membran mukosa, dan konjungtiva melalui kontak inhalasi, oral, maupun transdermal. Konsentrasi tertinggi organofosfat pada manusia dapat dideteksi pada 6 jam sampai dengan 48 hari pada intoksikasi secara per oral (Setiati *et al.*, 2014). Persistensi insektisida organofosfat di dalam tanah lebih rendah dibandingkan golongan organoklorin, namun daya toksisitasnya lebih tinggi sehingga golongan ini digunakan sebagai alternatif penggantian insektisida golongan organoklorin (Amine *et al.*, 2006; Rustia *et al.*, 2010; Azis, 2011).

2.2 Diazinon

2.2.1 Definisi Diazinon

Diazinon merupakan senyawa kimia yang tidak terdapat secara alami di alam. Senyawa ini merupakan salah satu jenis insektisida golongan organofosfat yang digunakan untuk mengendalikan serangga hama tanaman. Diazinon beredar di pasaran dengan nama dagang *Alfatox*, *Basudin*, *AG 500*, *Dazzel*, *Gardentox*, dan *Knoxout* (ATSDR, 2008). Senyawa ini digunakan sebagai insektisida tidak hanya di lingkup pertanian, tetapi juga di area pemukiman warga seperti area bermain, fasilitas hewan, dan tempat lainnya yang memungkinkan adanya penumpukan sampah yang mengundang insekta (Al-Attar, 2015). Penggunaan diazinon di Amerika Serikat dalam bidang pertanian mencapai 680 ton, sedangkan penggunaannya dalam kebutuhan industri dan rumah tangga mencapai 34.000 ton setiap tahunnya (Cox, 2000). Mekanisme kerja diazinon diperankan terutama oleh *diazoxon*, senyawa metabolit aktif dari diazinon yang bekerja dengan menghambat enzim AChE (Martin-Reina *et al.*, 2017).

2.2.2 Batas Maksimum Residu (BMR) Diazinon

Batas maksimum residu (BMR) pestisida menggambarkan tingkat bahaya residu pestisida pada suatu bahan. BMR ditunjukkan dalam bentuk nominal yang menunjukkan konsentrasi maksimum residu pestisida yang secara hukum diizinkan atau diketahui sebagai konsentrasi yang dapat diterima pada hasil pertanian yang dinyatakan dalam miligram residu pestisida per kilogram hasil pertanian (BSN, 2008). Menteri Kesehatan dan Menteri Pertanian Indonesia (1996) menetapkan batas maksimum residu (BMR) pestisida yang diperbolehkan untuk setiap jenis pestisida dan komoditas pertanian. Hal ini dilakukan sebagai upaya pencegahan terhadap meningkatnya jumlah keracunan akibat pestisida, dan sebagai upaya pengawasan terhadap penggunaan pestisida oleh petani di Indonesia.

Beberapa studi mengenai residu diazinon di lingkungan maupun hasil pertanian telah banyak dilakukan. Harsojo dan Chairul (2011) mengamati beberapa titik pasar di Jakarta dan menemukan bahwa terdapat residu diazinon

pada sayuran kacang panjang sebesar 4,32 mg/kg (Harsojo dan Chairul, 2011). Jumlah tersebut melebihi BMR diazinon yang ditetapkan (0,2 mg/kg). Hasil penelitian lainnya menunjukkan jumlah residu diazinon tidak melampaui BMR, namun tertinggalnya residu dalam bahan makanan tetap dapat menyebabkan keracunan akibat ingesti makanan tersebut (Tuhumury *et al.*, 2012). Pengamatan oleh Ardiwinata dan Nursyamsi (2012) di beberapa titik sentra pertanian di Jawa Tengah menunjukkan adanya residu diazinon pada sampel tanah dan tanaman padi, sedangkan Kementerian Pertanian telah menetapkan larangan penggunaan diazinon pada tanaman padi (Ardiwinata dan Nursyamsi, 2012). Studi lain menunjukkan bahwa terdapat residu diazinon di tanah yang ditanami sayuran di wilayah Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Sumatera Utara, dan Sumatera Selatan dengan kadar melebihi BMR (Soekardi dalam Harsanti *et al.*, 2003). Tabel 2.1 menunjukkan BMR diazinon pada berbagai komoditas hasil pertanian (Menteri Kesehatan dan Menteri Pertanian, 1996; BSN, 2008).

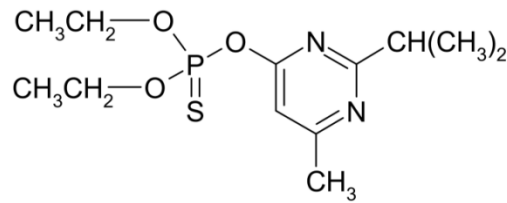
Tabel 2.1 Batas maksimum residu (BMR) diazinon

Komoditas	BMR (mg/kg)	Komoditas	BMR (mg/kg)
almon	0,05	kacang-kacangan (polong dan/atau biji muda)	0,2
barley	0,1	kemiri	0,1
beras	0,1	kenari	0,01
buah-buahan	0,5	kubis	0,5
daging ayam	0,02	minyak zaitun, mentah	2
daging sapi, babi, dan kambing	2	persik	0,7
gandum	0,1	sayuran	0,5
jagung manis	0,02	susu	0,02
jeruk	0,7	telur ayam	0,02
kacang tanah	0,1	zaitun	2

Sumber: BSN, 2008; Kementerian Pertanian RI, 2016

2.2.3 Sifat Fisik dan Kimia Diazinon

Diazinon memiliki nama senyawa O,O-dietil-O-(2-isopropil-4-metil-6-pirimidil) fosforotioat. Struktur kimia diazinon adalah $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$. Struktur kimia senyawa diazinon dapat dilihat pada Gambar 2.1 (ATSDR, 2008).



Gambar 2.1 Struktur kimia diazinon (ATSDR, 2008)

Diazinon merupakan senyawa berbentuk cair, tidak berwarna, berbau samar seperti ester, dan memiliki berat molekul 304,35 g/mol. Titik didih senyawa ini adalah 83-84°C dengan tingkat kelarutan dalam air 40 mg/L pada suhu 20°C. Diazinon memiliki tekanan uap $9,01 \times 10^{-5}$ mmHg pada suhu 20°C dan $1,1 \times 10^{-3}$ mmHg pada suhu 40°C, serta titik nyala 82,2°C (ATSDR, 2008).

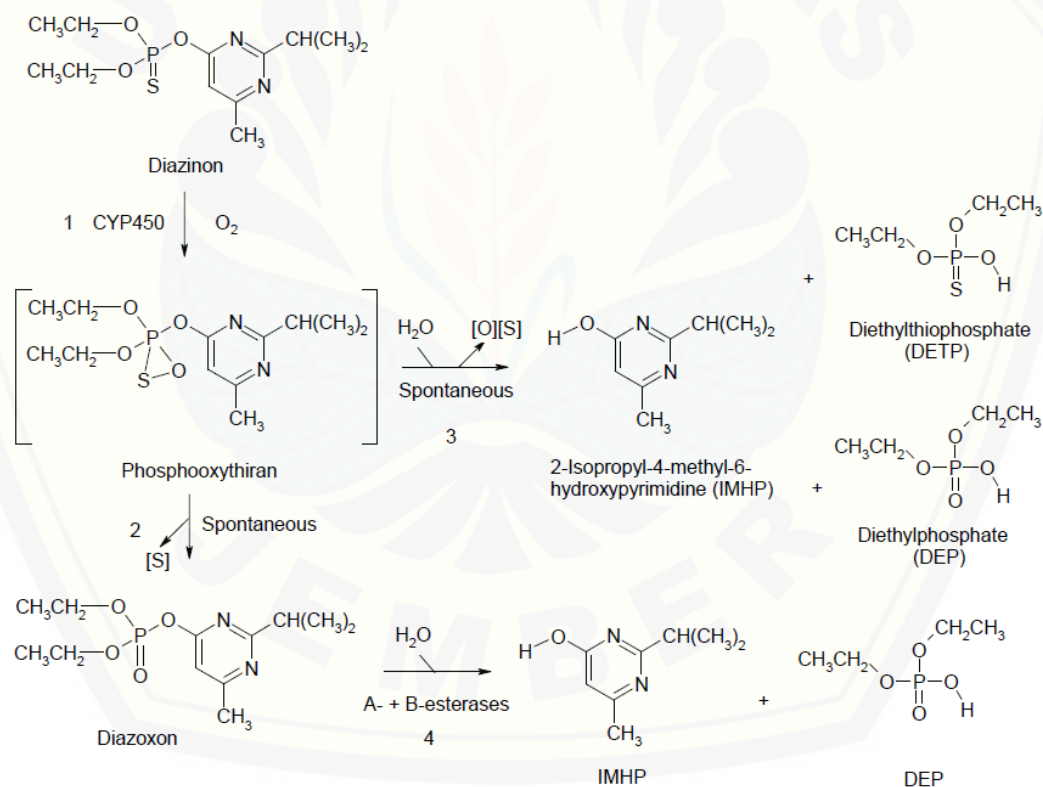
2.2.4 Metabolisme Diazinon

Diazinon merupakan salah satu senyawa insektisida golongan organofosfat yang bekerja melalui potensinya dalam menghambat enzim AChE. Penghambatan enzim tersebut menyebabkan penumpukan *neurotransmitter* ACh pada serat saraf simpatis dan parasimpatis, sehingga terjadi peningkatan aktivitas kolinergik pada sistem saraf pusat dan perifer. Mekanisme penghambatan enzim AChE lebih banyak diperankan oleh senyawa metabolit aktif dari diazinon, yakni *diazoxon* (Bonilla *et al.*, 2008; Terry, 2012; Martin-Reina *et al.*, 2017).

Diazinon akan teroksidasi menjadi senyawa *intermediate phosphooythiran* oleh sitokrom P450 yang berada di jaringan hepar dan intestinum *tenue*. Senyawa ini selanjutnya akan mengalami desulfurasi spontan membentuk *diazoxon*. Poet *et al.*, (2003) menyatakan bahwa sitokrom P450 memiliki mekanisme kerja yang sama dalam metabolisme diazinon di jaringan hepar dan intestinum *tenue*. Hasil studinya menunjukkan bahwa desulfurasi pembentukan *diazoxon* pada jaringan hepar memiliki kecepatan sepuluh kali lipat lebih tinggi dibandingkan intestinum *tenue* (Poet *et al.*, 2003). Skema biotransformasi diazinon oleh sitokrom P450 ditunjukkan pada Gambar 2.2.

Selain terjadi desulfurasi spontan membentuk *diazoxon*, senyawa *phosphooythiran* dapat mengalami inaktivasi akibat hidrolisis, desulfurasi, dan

deoksigenasi membentuk metabolit 2-isopropil-4-metil-6-hidroksipirimidin (IMHP), dietiltiofosfat (DETP), dan dietilfosfat (DEP) yang akan diekskresikan ke sistem urinaria. *Diazoxon* yang terbentuk akan didetoksifikasi oleh A-esterase dan B-esterase hepatic dan ekstrahepatic. A-esterase (PON1) tidak terpengaruh oleh ikatan dengan organofosfat, enzim ini akan tetap berfungsi untuk menghidrolisis senyawa *diazoxon* membentuk IMHP dan DEP. B-esterase (butilkolinesterase dan asetilkolinesterase) akan mengalami inhibisi akibat ikatannya dengan *diazoxon*. Inhibisi B-esterase selanjutnya menyebabkan hambatan detoksifikasi *diazoxon* sehingga metabolit ini tetap berada di jaringan hepar dan terus bekerja menghambat enzim AChE (Wilson, 2001; Poet *et al.*, 2003; Poet *et al.*, 2004; ATSDR, 2008; Bonilla *et al.*, 2008).



Gambar 2.2 Biotransformasi diazinon oleh sitokrom P450 (ATSDR, 2008)

2.2.5 Toksisitas Diazinon

Intoksikasi diazinon pada makhluk hidup dapat terjadi secara transdermal, per inhalasi, dan per oral. Sebagaimana golongan induknya (organofosfat),

diazinon dapat menyebabkan toksisitas terhadap organisme target maupun *non*-target. Secara umum, toksisitas oleh diazinon terjadi akibat penghambatan enzim AChE yang diperankan oleh *diazoxon*. Mekanisme tersebut tidak secara spesifik terjadi hanya pada tubuh serangga sasaran penggunaan jenis insektisida ini. Toksikokinetik yang sama dapat terjadi di dalam tubuh manusia yang mengalami kontak melalui ingesti makanan, kontak dengan permukaan kulit, maupun kontak secara inhalasi (ATSDR, 2008; Kretschmann *et al.*, 2012).

Insektisida organofosfat terbagi menjadi tiga kelas utama, yakni fosforotionat, fosforoditioat, dan fosforoamidotiolat. Diazinon termasuk dalam kelas fosforotionat yang akan mengalami aktivasi metabolik (desulfatasi) menjadi analog oksigennya (*oxon*). Produk *oxon* dari diazinon, *diazoxon*, memiliki afinitas dan potensi yang tinggi untuk memfosforilasi gugus hidroksil serin di dalam situs aktif AChE (Moshiri *et al.*, 2013). Diazinon sendiri merupakan senyawa penghambat AChE yang lemah, sehingga untuk menyebabkan toksisitas terlebih dahulu harus teraktivasi menjadi senyawa *oxon*-nya (Wu *et al.*, 1996; Moshiri *et al.*, 2013). Wu *et al.*, (1996) menyatakan bahwa diazinon dalam tubuh tikus wistar secara cepat dimetabolisme menjadi *diazoxon*. Aktivasi ini sebagian besar terjadi di jaringan hepar dengan kapasitasnya yang tinggi dalam menghidrolisis diazinon. Aktivasi diazinon juga dapat terjadi di jaringan ekstrahepatik, sehingga turut berperan dalam toksisitasnya yang mengarah pada kerusakan di jaringan yang lain (Wu *et al.*, 1996; Poet *et al.*, 2003).

Toksikokinetik diazinon sebelum termetabolisme menjadi *diazoxon* secara intrahepatik dilaporkan dapat menyebabkan kerusakan pada beberapa jaringan yang dilaluinya, bergantung pada dosis dan lamanya paparan. Intoksikasi akut (< 14 hari) diazinon secara per oral pada tikus *Rat* dilaporkan dapat menyebabkan kerusakan secara sistemik (sistem hematologi, hepatic, okular, perubahan berat badan), sistem saraf, reproduksi, dan gangguan perkembangan. Intoksikasi akut diazinon melalui inhalasi dilaporkan dapat menyebabkan kerusakan secara sistemik (sistem respirasi, renal, dan perubahan berat badan) dan sistem saraf. Intoksikasi akut diazinon secara transdermal dilaporkan dapat menyebabkan kerusakan pada sistem saraf (ATSDR, 2008).

Toksitas utama diazinon terjadi akibat penghambatan AChE yang menghasilkan akumulasi asetilkolin pada reseptornya yang mengarah pada respons kolinergik perifer (muskarinik dan nikotinic) serta sistem saraf pusat dan persimpangan neuromuskuler. Paparan akut diazinon tingkat tinggi menyebabkan penghambatan AChE parah yang sering mengarah pada tanda dan gejala kolinergik dan bermanifestasi sebagai disfungsi neuromuskuler. Manifestasi yang dapat terjadi antara lain efek muskarinik (bronkokonstriksi, peningkatan bronkosekresi, mual dan muntah, diare, bradikardia, hipotensi, miosis, inkontinensia urin), efek nikotinic (takikardia, hipertensi, kejang otot dan kelemahan, fasikulasi, kram), dan efek sistem saraf pusat (kecemasan, apatis, depresi, pusing, kantuk, susah tidur, mimpi buruk, sakit kepala, kebingungan, ataksia, refleks depresi, kejang, depresi pernafasan, koma). Paparan diazinon dengan dosis yang tinggi dapat menyebabkan iritasi kulit, sesak hingga gagal napas, dan gagal jantung serta kematian. Manifestasi kolinergik dari paparan akut diazinon yang tinggi juga telah dilaporkan pada hewan seperti anoreksia, ataksia, epistaksis, tremor, lesu, terengah-engah, kejang, takipnea, dispnea, fasikulasi, berkedut, eksoftalmus, diare, hipersalivasi, hiperlakrimasi, refleks ekor Straub, dan hipotermia. Tanda-tanda klinis neurotoksisitas diazinon setelah paparan oral berulang pada hewan telah dilaporkan pada dosis mulai dari 30 hingga 300 mg/kg/hari (ATSDR, 2008; Budiyo, 2012).

Intoksikasi diazinon secara per oral dalam menyebabkan hepatotoksitas telah banyak dilaporkan. Hasil studi Ngabekti dan Isnaeni (2000) dan Wulandari (2006) menunjukkan bahwa pemberian diazinon secara per oral dengan dosis 40 mg/kgBB selama lima hari berturut-turut menunjukkan perubahan pada struktur histologi maupun pemeriksaan biokimiawi hepar. Perubahan histologi yang dilaporkan akibat intoksikasi diazinon meliputi kongesti pembuluh darah, infiltrasi leukosit di parenkim hepar, vakuola sitoplasmik, degenerasi lemak, terbentuknya inti piknotik pada hepatosit, dan apoptosis serta nekrosis (Ngabekti dan Isnaeni, 2000; Wulandari, 2006; Sarhan dan Al-Sahhaf, 2016). Perubahan biokimiawi hepar yang dilaporkan akibat intoksikasi diazinon secara per oral meliputi peningkatan kadar enzim SGOT, SGPT, dan ALP serta peningkatan

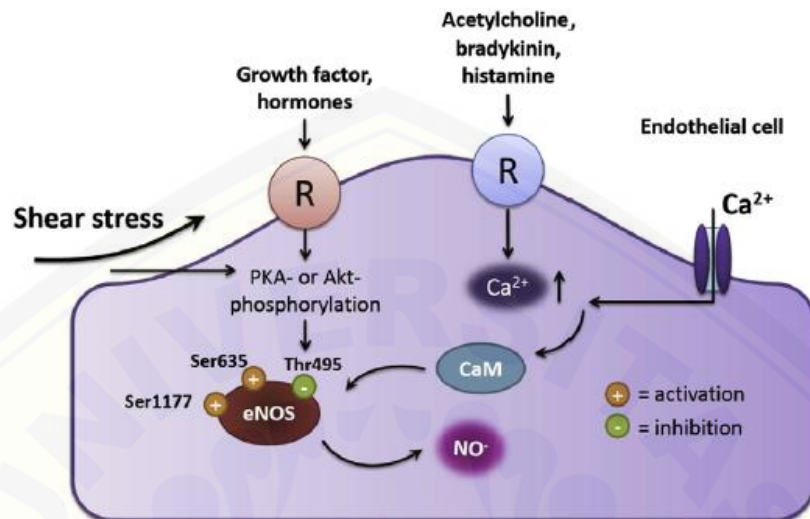
trigliserid dan kolesterol total (Kalender *et al.*, 2005; Wulandari, 2006; Sarhan dan Al-Sahhaf, 2016).

2.2.6 Patomekanisme Hepatotoksisitas Diazinon

Kerusakan hepar yang diinduksi diazinon diawali dengan destruksi sistem sitokrom P450, suatu monooksigenase pada jaringan hepar yang mengkatalis oksidasi dengan memasukkan satu atom molekul oksigen pada substratnya melalui jalur transpor elektron, reaksi ini menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Apabila antioksidan dalam tubuh tidak dapat memenuhi kebutuhan dalam mengeliminasi ROS yang terus-menerus dihasilkan dari metabolisme diazinon, maka akan terjadi deplesi antioksidan yang berakibat pada perubahan homeostasis antioksidan dan memicu stres oksidatif (Gokcimen *et al.*, 2007; Lukaszewicz-Hussain, 2010; Colovic *et al.*, 2013).

Mekanisme kerja utama diazinon yang merupakan senyawa golongan organofosfat diperankan oleh senyawa metabolit aktifnya, *diazoxon* dengan melakukan penghambatan enzim AChE sehingga menyebabkan penumpukan ACh. ACh merupakan *neurotransmitter* yang secara normal berikatan dengan reseptornya, ikatan ini akan menyebabkan peningkatan konsentrasi ion Ca^{2+} intraselular. Ion Ca^{2+} akan berikatan dengan *calmoduline* (CaM) menyebabkan aktivasi *calmoduline-binding domain* membentuk *Nitric Oxide* (NO), senyawa *Reactive Nitrogen Species* (RNS) yang secara alami terbentuk di dalam tubuh terutama pada sel endotel pembuluh darah. Skema pembentukan *nitric oxide* ditunjukkan dalam Gambar 2.3. *Nitric oxide* (NO) dan senyawa ROS dan RNS lainnya akan mengalami ikatan dengan antioksidan alami dalam tubuh seperti *Superoxide Dismutase* (SOD), *Glutathione Reductase* (GR), dan *catalase*. Apabila terjadi penumpukan ACh, maka akan terjadi pembentukan NO berlebih yang akan terus-menerus diikat oleh GSH membentuk senyawa stabilnya, *S-nitrosoglutathione* (GSNO). Apabila kadar GSH dalam tubuh tidak mencukupi kebutuhan untuk mengikat NO membentuk senyawa stabilnya, maka akan terjadi akumulasi ROS yang selanjutnya akan mengoksidasi *Poliunsaturated Fatty Acid*

(PUFA) membentuk peroksidasi lemak dan menyebabkan stres oksidatif (Galli *et al.*, 2002; Lari *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2015).

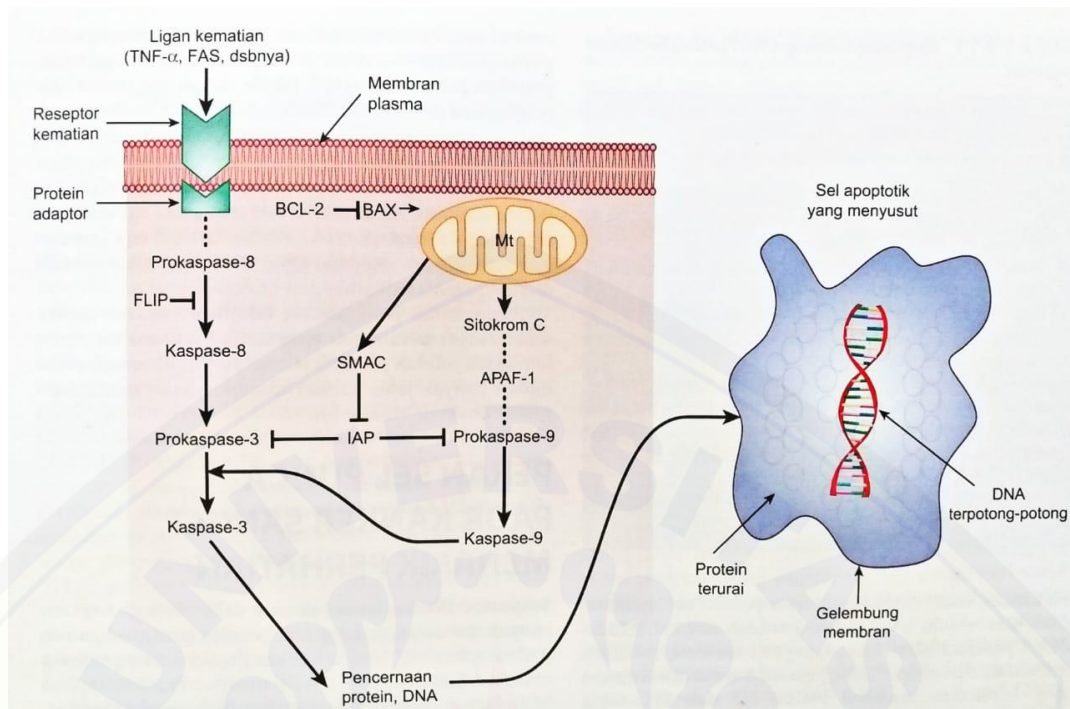


Gambar 2.3 Skema pembentukan *Nitric Oxide* (NO) (Zhao *et al.*, 2015)

Diazinon menyebabkan efek hepatotoksitas melalui dua jalur, yakni stres oksidatif bersamaan dengan mekanisme apoptosis yang diperankan langsung oleh *diazoxon* (Colovic *et al.*, 2013; Lari *et al.*, 2013). *Diazoxon* menyebabkan gangguan sistem transport elektron, sekitar 1-5% jumlah elektron tersesat dari rantai respirasi yang menyebabkan hambatan jalur respirasi mitokondria, sehingga pembentukan *Adenosine Triphosphate* (ATP) terhambat dan terjadi deplesi ATP. Hal ini memicu terbentuknya ROS, produksi ROS yang berlebihan mengakibatkan kerusakan membran mitokondria melalui pembentukan *permeability transition* (PT) *pore* yang menyebabkan sitokrom c terlepas ke dalam sitoplasma sehingga terjadi penghambatan transpor elektron mitokondria dan peningkatan aktivasi ROS di sitosol. Peningkatan jumlah ROS yang tidak diimbangi dengan eliminasi ROS menyebabkan perubahan pada homeostasis antioksidan normal dan mengakibatkan penipisan antioksidan. (Lari *et al.*, 2013; Setiati *et al.*, 2014; Martin-Reina *et al.*, 2017).

Lari (2013) dalam penelitiannya menemukan bahwa induksi diazinon menyebabkan apoptosis terhadap sel-sel hepatosit melalui aktivasi kaspase-3 dan kaspase 9 (Lari *et al.*, 2013). Apoptosis yang terjadi melibatkan jalur ekstrinsik

dan intrinsik, pada awalnya terjadi ikatan ligan-reseptor pada membran sel yang menginduksi beberapa proenzim seperti kaspase-8 dan kaspase 10 pada domain intraselular untuk membentuk *death inducing signalling complex* (DISC) serta protein pro-apoptosis seperti *Bax* dan *Bad*. Sinyal yang dihasilkan oleh DISC akan memicu kematian sel bergantung pada pajanan mitokondria dengan sinyal ekstra-intraselular berikutnya. Pajanan mitokondria dengan oksigen reaktif seperti yang telah dijelaskan sebelumnya menyebabkan disfungsi mitokondria yang mengubah arsitektur organel dan permeabilitas membran mitokondria dengan membentuk *permeability transition* (PT) *pore*, hal ini juga dipicu oleh protein *Bax* pada membran mitokondria. Sitokrom c dengan stimulasi oleh protein *Bax* dan senyawa oksidan akan terlepas ke sitoplasma melalui pori tersebut, selanjutnya akan berinteraksi dengan APAF-1, prokaspase-9, dan ATP membentuk suatu kompleks multiprotein yang disebut apoptosom sehingga terjadi aktivasi kaspase-9. Kaspase-9 bekerja dengan mengaktifasi prokaspase-3 menjadi bentuk aktifnya, yaitu kaspase-3 yang bekerja dengan mencerna protein struktural seperti lamin, protein sitoskeleton, dan enzim-enzim yang berperan dalam perbaikan DNA; menginaktivasi enzim untuk replikasi sel, memecah protein penyusun inti sel, dan memecah struktur DNA kromosom menjadi inti-inti nukleosom sehingga menyebabkan kematian sel terprogram (apoptosis) (Murray *et al.*, 2012; Setiati *et al.*, 2014). Gambaran skematik proses terjadinya kematian sel (apoptosis) ditunjukkan dalam Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Skema apoptosis (Murray *et al.*, 2012)

2.3 Hepar

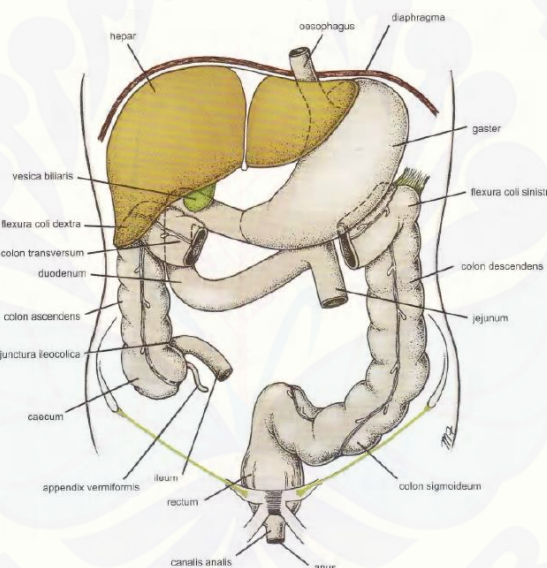
2.3.1 Anatomi Hepar

Hepar adalah organ utama dalam tubuh makhluk hidup yang berfungsi sebagai tempat terjadinya metabolisme utama nutrisi yang masuk dalam tubuh. Hal ini menjadikan hepar sebagai organ detoksifikasi bagi senyawa-senyawa kimia yang masuk ke dalam tubuh terutama secara peroral yang secara tidak langsung memberikan potensi kerusakan pada sel-sel hepar yang terlibat dalam metabolisme tersebut. Organ ini juga berfungsi sebagai kelenjar yang memiliki ukuran terbesar dibandingkan struktur kelenjar lainnya di dalam tubuh (Snell, 2012; Sulaiman *et al.*, 2012).

Hepar memiliki tekstur yang lunak dan lentur, terletak di bagian atas kavitas abdominalis tepat di bawah diafragma. Beratnya pada pria dewasa berkisar antara 1,4-1,6 kg (1/36 dari berat badan), sedangkan pada wanita dewasa antara 1,2-1,4 kg. Ukuran normal hepar pada orang dewasa yakni panjang kanan-kiri 15 cm, tinggi bagian hepar paling kanan (ukuran superior-inferior) 15-17 cm, dan tebal (ukuran antero-posterior) setinggi renal 12-15 cm. Sebagian besar bagian

organ ini terletak di bawah *arcus costalis dextra*, dan setengah bagian diafragma bagian kanan memisahkan hepar dari struktur pleura dan paru, perikardium, serta jantung (Snell, 2012; Sulaiman *et al.*, 2012).

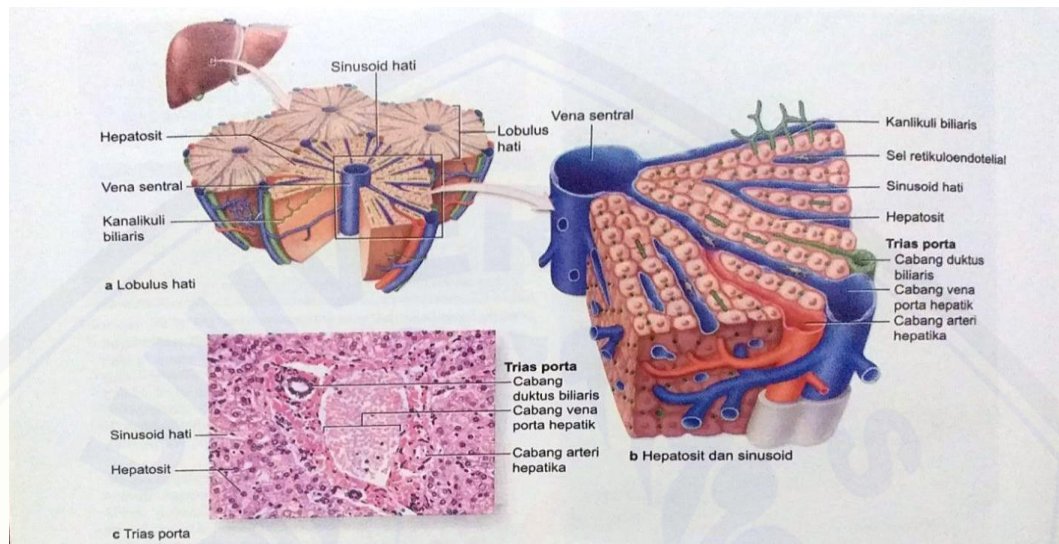
Hepar terbentang ke kiri untuk mencapai setengah bagian diafragma sebelah kiri, permukaan atasnya cembung melengkung di bawah kubah diafragma. Pada permukaan posteroinferior hepar terdapat cetakan dari visera yang letaknya berdekatan, sehingga membentuk hepar menjadi bentuk yang tidak beraturan. Permukaan ini berhubungan dengan pars abdominalis esofagus, gaster, duodenum, fleksura coli dextra, ren dextra dan glandula suprarenalis dextra, serta vesika biliaris (Snell, 2012). Struktur anatomi hepar dalam viscera abdominalis ditunjukkan dalam Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Anatomi hepar dan susunannya dalam viscera abdominalis (Snell, 2012)

Struktur hepar tersusun atas hepatosit (sel-sel hepar) yang berkelompok membentuk lempengan-lempengan yang saling berhubungan. Hepatosit tersusun berupa ribuan lobulus hepar yang merupakan unit struktural dan fungsional dari organ hepar itu sendiri. Setiap lobulus terdiri dari 3-6 area portal di bagian perifer dan sebuah venule di bagian sentral (vena sentral). Zona portal yang terdapat di sudut lobulus terdiri atas jaringan ikat dengan suatu venule, arteriol, dan duktus epitel kuboid (trias porta). Hepatosit membentuk suatu lempeng yang saling berhubungan dan tersusun radial di sekeliling vena sentralnya. Lempeng hepatosit

bercabang dan beranastomosis secara bebas membentuk struktur menyerupai spons. Celah di antara lempengan tersebut mengandung komponen mikrovaskular yang disebut sinusoid (Mescher, 2012). Struktur hepatosit dan struktur yang dibentuknya ditunjukkan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Lobulus, hepatosit dan sinusoid, trias porta pada hepar (Mescher, 2012)

2.3.2 Fisiologi Hepar

Hepar secara strategis terletak diantara saluran pencernaan dan sirkulasi umum, memainkan peran sentral dalam metabolisme dan distribusi nutrisi, serta detoksifikasi metabolit beracun dan xenobiotik. Hepar memiliki fungsi ekskretori dengan mensekresikan empedu yang berperan penting dalam pencernaan dan absorpsi lemak. Empedu disekresikan dari sel hepar secara langsung ke dalam kanalikuli empedu yang terletak di antara sel-sel hepar yang berdekatan. Empedu diproduksi di hepar yang selanjutnya dikonsentrasikan dalam kandung empedu, kemudian disimpan atau ditransportkan ke duodenum (Hall, 2011; Sulaiman *et al.*, 2012; Chiang, 2013).

Pencernaan lemak terjadi melalui mekanisme emulsi pada partikel lemak dalam makanan. Mekanisme tersebut akan mengurangi tegangan permukaan partikel dan memungkinkan agitasi dalam duodenum untuk memecah gumpalan lemak menjadi partikel-partikel berukuran kecil. Selain itu, garam empedu dalam duodenum akan membantu penyerapan asam lemak, monogliserida, kolesterol,

dan struktur lipid lain dari saluran usus dengan membentuk *micelles*. *Micelles* garam empedu akan mengangkut asam lemak bebas dan monogliserida menuju *brush border* pada sel epitel usus untuk selanjutnya diserap dan disalurkan ke peredaran darah (Hall, 2011).

Hepar memiliki fungsi metabolisme terhadap karbohidrat, lemak, dan protein. Perannya dalam metabolisme karbohidrat antara lain 1) sebagai tempat penyimpanan sejumlah besar glikogen, 2) mengkonversi galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa, serta 3) melakukan glukoneogenesis untuk mempertahankan kadar glukosa darah saat terjadi penurunan konsentrasi di bawah batas normal. Fungsi metabolisme lemak oleh hepar antara lain dengan 1) mengoksidasi asam lemak sebagai suplai energi untuk fungsi fisiologis tubuh lainnya, 2) mensintesis sejumlah besar kolesterol, fosfolipid, dan lipoprotein, serta 3) mensintesis lemak dari protein dan karbohidrat. Peranan hepar dalam metabolisme protein antara lain 1) deaminasi asam amino, 2) membentuk urea untuk menghilangkan amonia dari cairan tubuh, 3) pembentukan protein plasma, dan 4) interkonversi berbagai asam amino dan sintesis senyawa lainnya dari asam amino. Selain itu, hepar juga memiliki beberapa fungsi metabolisme selain karbohidrat, lemak, dan protein, meliputi 1) sebagai situs penyimpanan vitamin, 2) menyimpan Fe (zat besi) sebagai feritin, dan 3) membentuk substansi dalam darah yang berfungsi dalam sistem koagulasi (Hall, 2011).

Kerusakan pada struktur maupun fungsional pada hepar dapat memiliki dampak yang besar dalam sistem metabolisme dan detoksifikasi tubuh, karena tidak ada organ lain dalam tubuh yang memiliki kemampuan untuk mengkompensasi fungsi hepar ketika mengalami kerusakan. Paparan dengan alkohol, kadar obat-obatan yang berlebih, xenobiotik, dan metabolit lainnya dapat merusak struktur dan sel-sel hepar yang selanjutnya menyebabkan pelepasan enzim hepar seperti SGOT, SGPT, ALP, GGT, dan 5NT ke sirkulasi darah. Selain enzim-enzim tersebut, terdapat penanda biokimiawi lain sebagai akibat dari perubahan fungsional hepar bergantung pada fungsi hepar yang mengalami gangguan, seperti albumin, globulin, *prothrombin time* (PT), alfa fetoprotein

(AFP), dan penanda biokimiawi fungsi hati lainnya (Hall, 2011; Sulaiman *et al.*, 2012).

2.3.3 Pemeriksaan Laboratorium Hepar

Pemeriksaan laboratorium hepar berfungsi sebagai pemeriksaan penunjang untuk membantu penegakan diagnosis penyakit hepar. Penyakit pada sistem hepatik yang terjadi dapat berupa kelainan fungsi metabolisme (fungsi sintesis dan fungsi penyimpanan), kelainan fungsi pertahanan tubuh (fungsi detoksifikasi dan fungsi ekskresi), atau kerusakan sel hepar. Pada dasarnya, pemeriksaan laboratorium digunakan untuk mendapatkan informasi tambahan mengenai fungsi, keutuhan sel, dan etiologi penyakit pada hepar dengan melakukan interpretasi hasil pemeriksaan yang dikaitkan dengan hasil anamnesis dan pemeriksaan fisik serta pemeriksaan penunjang lainnya (Sulaiman *et al.*, 2012).

a. Pemeriksaan fungsi hepar

Fungsi hepar pada umumnya dapat dibagi menjadi fungsi sintesis, fungsi ekskresi, fungsi penyimpanan, dan fungsi detoksifikasi. Beberapa pemeriksaan yang dapat membantu evaluasi fungsi sintesis hepar antara lain dengan pemeriksaan protein (termasuk albumin, globulin, elektroforesis protein), *prothrombin time* (PT), dan kolinesterase. Fungsi ekskresi hepar dapat dievaluasi dengan pemeriksaan bilirubin, kolesterol, asam empedu, dan kadar trigliserida. Apabila dicurigai adanya kelainan fungsi penyimpanan (*storage*) pada hepar, dilakukan pemeriksaan glukosa dan glikogen, asam amino, dan protein. Fungsi hepar sebagai detoksifikasi dapat dievaluasi dengan pemeriksaan amonia (Sulaiman *et al.*, 2012).

b. Pemeriksaan keutuhan sel hepar

Keutuhan sel hepar akibat cedera dapat dievaluasi melalui pemeriksaan enzim hepar. Enzim-enzim yang secara langsung disintesis oleh sel-sel hepar antara lain SGOT, SGPT, *Alkaline Phosphatase* (ALP), *γ-Glutamyltransferase* (GGT), dan *5-Nucleotidase* (5'NT). Peningkatan kadar enzim tersebut dapat terjadi melalui berbagai mekanisme, salah satunya akibat cedera sel hepar yang menyebabkan kerusakan irreversibel diikuti dengan kebocoran enzim

sitoplasma. Berdasarkan lokasinya, peningkatan enzim tersebut dapat membantu menginterpretasikan tingkat kerusakan sel hepar (Sulaiman *et al.*, 2012).

Enzim aminotransferase (SGOT dan SGPT) terdapat di dalam sitoplasma sel hepar, selain itu enzim SGOT juga ditemukan dalam mitokondria. Kerusakan sel hepar di area tersebut dapat menyebabkan peningkatan enzim aminotransferase. Kerusakan sel hepar tanpa disertai gangguan sintesis enzim akan menunjukkan peningkatan kadar enzim aminotransferase. Apabila kerusakan sel hepar tersebut berlanjut menjadi nekrosis dan sel kehilangan kemampuan untuk mensintesis enzim, maka pada pemeriksaan biokimiawi tidak ditemukan peningkatan enzim tersebut. Peningkatan kadar SGOT berhubungan langsung dengan jumlah kerusakan sel. Kerusakan sel akan diikuti dengan peningkatan kadar SGOT dalam 12 jam dan tetap meningkat selama 5 hari. Enzim SGPT memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan SGOT, hal ini berhubungan dengan lokasi sintesis enzim yang terutama terjadi di jaringan hepar dalam jumlah yang tinggi dibandingkan jaringan lainnya (Sulaiman *et al.*, 2012).

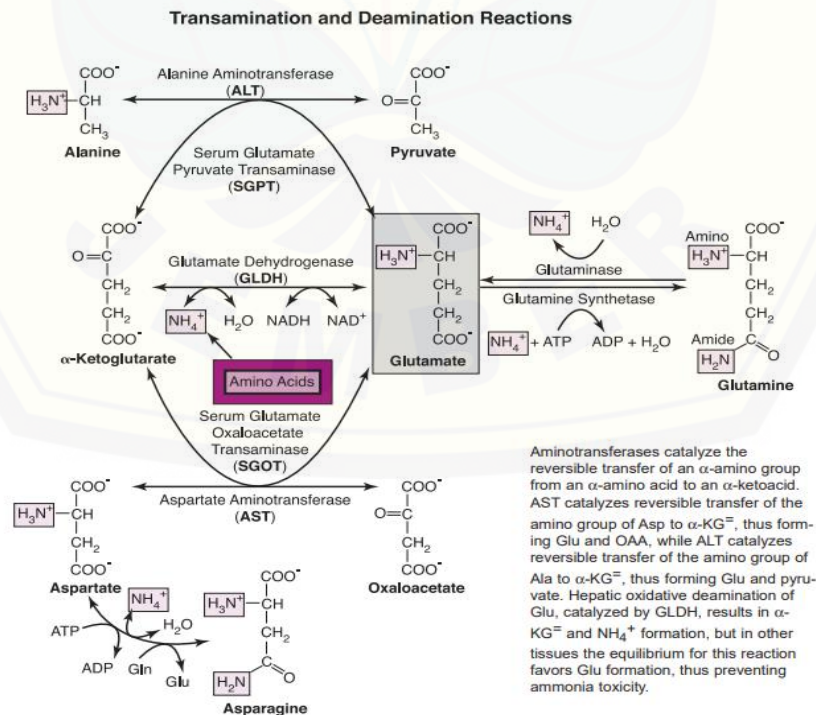
Enzim ALP dan GGT terdapat dalam kanalikuli bilier, yang kadarnya akan meningkat akibat kerusakan pada area tersebut atau terdapat kolestasis. Enzim ALP disintesis di jaringan hepar, tulang, dan plasenta. Pemeriksaan biokimiawi ALP biasa digunakan untuk mengklasifikan kelainan tertentu berasal dari jaringan hepar atau tulang menggunakan isoenzim spesifik untuk masing-masing jaringan. Pemeriksaan ALP secara tunggal cenderung memberikan interpretasi yang tidak tepat, sehingga enzim ini tidak dapat digunakan sebagai satu-satunya enzim penanda kerusakan sel hepar. Enzim GGT memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap alkohol, enzim ini digunakan untuk menentukan disfungsi sel hepar akibat konsumsi alkohol. Enzim GGT akan meningkat pada semua bentuk kelainan hepar, sehingga tidak dapat menjadi penanda utama adanya kerusakan sel hepar. Pemeriksaan enzim ini dapat memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan ketiga enzim lainnya

dalam mendeteksi ikterus obstruktif, kolangitis, dan kolesistitis karena lokasi sintesisnya yang berada di kanalikuli (Sulaiman *et al.*, 2012).

2.4 Enzim Aminotransferase

2.4.1 Definisi

Enzim aminotransferase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi transaminasi yang terjadi di mitokondria maupun sitoplasma. Enzim ini mengkatalisis transfer gugus α -amino dari aspartat dan alanin secara berturut-turut menjadi gugus α -keto dari ketoglutarat, sehingga membentuk asam oksaloasetat dan asam piruvat (Engelking, 2011; Isselbacher *et al.*, 2015). Proses transaminasi terjadi pada katabolisme beberapa asam amino seperti alanin, asam aspartat, dan sistein, dengan pemindahan gugus amino dari satu asam amino ke asam amino yang lain (Sumardjo, 2008). Terdapat dua jenis enzim serum transaminase yang berperan penting dalam metabolisme makhluk hidup yaitu serum glutamat oksaloasetat transaminase (SGOT) dan serum glutamat piruvat transaminase (SGPT) (Engelking, 2011). Reaksi transaminasi SGOT dan SGPT ditunjukkan pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Reaksi transaminasi oleh SGOT dan SGPT (Engelking, 2011)

2.4.2 Enzim Aminotransferase sebagai Penanda Kerusakan Hepar

Penilaian aktivitas enzim hepar seperti SGOT dan SGPT banyak digunakan sebagai kriteria diagnosis dan penilaian penyakit hepar (Kim *et al.*, 2008). Kadar SGOT dipengaruhi oleh usia, ras, obesitas, dan penggunaan obat-obatan, serta kondisi hepar, sistem bilier, otot, dan jantung. Kadar SGPT dipengaruhi oleh usia, ras, obesitas, dan penggunaan obat-obatan (Conigrave *et al.*, 2003). Aktivitas abnormal dari enzim hepatik dapat menjadi kriteria diagnostik apabila terdapat riwayat gejala pada penderita disertai dengan peningkatan kadar enzim yang signifikan. Nilai normal kadar SGOT pada tikus Rat percobaan berada pada rentang 74-143 U/L, sedangkan nilai normal kadar SGPT pada tikus Rat berada pada rentang 18-45 U/L (River, 2008). Peningkatan ringan kadar enzim ini dapat berdampak pada kondisi kesehatan hepar dalam jangka panjang, seperti penyakit-penyakit hepar stadium akhir dan kematian (Kim *et al.*, 2008).

Kerusakan hepatosit akan menyebabkan pengeluaran enzim aminotransferase ke ruang ekstraselular yang selanjutnya akan memasuki peredaran darah sehingga terjadi peningkatan kadar kedua enzim tersebut. Dalam kondisi normal, enzim yang dihasilkan oleh sel hepar tersebut dapat berada di ruang ekstraselular dengan konsentrasi rendah, hal ini dapat terjadi sebagai upaya homeostasis tubuh seperti mekanisme apoptosis yang secara fisiologis dapat terjadi pada sel-sel yang tidak dibutuhkan lagi dalam tubuh. Enzim SGOT dan SGPT mencerminkan keutuhan atau integrasi sel-sel hepar, sehingga apabila terdapat peningkatan kadar enzim tersebut maka dapat dijadikan sebagai indikator kerusakan pada sel-sel hepar. Semakin tinggi peningkatan kadar enzim SGOT dan SGPT, maka semakin tinggi pula tingkat kerusakan pada sel-sel hepar. Beberapa studi menunjukkan bahwa peningkatan kadar enzim SGOT dan SGPT terbukti tepat berhubungan dengan tingkat kerusakan sel hepar serta progresifitas suatu kondisi patologis seperti fibrosis dan sirosis hepatitis (Islam *et al.*, 2005; Nyblom *et al.*, 2006; Zhu *et al.*, 2011). Pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT merupakan pemeriksaan biokimiawi yang direkomendasikan oleh *American Gastroenterology*

College (AGC) sebagai panduan evaluasi kerusakan pada sel hepar (Ozer *et al.*, 2008; Kwo *et al.*, 2016).

Enzim SGPT merupakan enzim yang memiliki aktivitas tertinggi pada sitosol dan mitokondria hepatosit. Enzim ini disintesis terutama di jaringan hepar, dan pada konsentrasi yang rendah ditemukan pada otot rangka dan sel jantung. Kadar SGPT akan mengalami peningkatan pada kelainan yang menyebabkan cedera hepatoseluler, sehingga penilaiannya dapat secara efektif mengidentifikasi proses penyakit pada hepar yang sedang berlangsung. Pemeriksaan kadar SGPT telah dianggap sebagai penanda kelainan hepar dan hepatotoksisitas yang sensitif dibandingkan dengan pemeriksaan kadar SGOT (Kim *et al.*, 2008; Engelking, 2011). Enzim SGOT ditemukan pada sitosol hepatosit, dan dalam jumlah yang besar terdapat di jaringan selain hepar seperti jantung, otot rangka, ginjal, dan otak. Pemeriksaan kadar SGOT bersifat tidak spesifik pada kerusakan sel-sel hati, namun enzim ini dapat menjadi penanda biokimiawi yang baik untuk menentukan proses nekrosis yang terjadi pada sel hepar. Peningkatan kadar SGOT dapat bertahan di sirkulasi antara 2 sampai 5 hari (Engelking, 2011; Sulaiman *et al.*, 2012).

2.4.3 Pemeriksaan Kadar SGOT dan SGPT

Metode pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT yang umum digunakan yaitu metode kinetik enzimatis sesuai *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC). Metode ini digunakan karena terbukti menunjukkan hasil dengan nilai relevansi yang tinggi, tanpa dipengaruhi etnis maupun faktor populasi lainnya (Ceriotti *et al.*, 2010). Metode IFCC mengukur aktivitas enzim melalui absorbansi cahaya dengan panjang gelombang 340 nm. Reagen yang digunakan dalam pengukuran SGOT dan SGPT masing-masing terdiri dari dua reagen. Reagen satu untuk pemeriksaan SGOT terdiri dari Tris 110 mmol/L dengan pH 7,8; *L-aspartate* 340 mmol/L; MDH (*Malate Dehydrogenase*) 0,5 kU/L; dan LDH (*Lactate Dehydrogenate*) 1,1 kU/L sedangkan reagen dua untuk pemeriksaan ini terdiri dari *2-Oxoglutarate* 85 mmol/L dan NADH ≥ 1 mmol/L. Reagen satu yang digunakan untuk pemeriksaan

kadar SGPT terdiri dari Tris 138 mmol/L dengan pH 7,5; *L-alanine* 709 mmol/L; dan dan LDH (*Lactate Dehydrogenase*) 1500 U/L), sedangkan reagen 2 untuk pemeriksaan ini terdiri dari *2-Oxoglutarate* 85 mmol/L dan NADH ≥ 1 mmol/L (Schumann *et al.*, 2002; Wagner, 2016a; Wagner, 2016b). Pemeriksaan SGOT dan SGPT pada tikus percobaan dapat menggunakan kit komersial untuk reaksi enzim aminotransferase yang sesuai (SGOT dan SGPT) (Gomez-zorita *et al.*, 2012).

2.5 Hepatoprotektor

2.5.1 Definisi Hepatoprotektor

Senyawa hepatoprotektor didefinisikan sebagai obat-obatan atau senyawa yang memiliki efektivitas dalam melindungi jaringan hepar dari faktor patologis ekstrahepatik maupun intrahepatik melalui penghambatan terhadap inflamasi dan progresivitas suatu penyakit (Herlianto *et al.*, 2014). Penelitian mengenai obat-obatan yang dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor masih terbatas, namun terdapat beberapa bahan alami yang telah diakui aktivitas hepatoprotektornya. Bahan-bahan alami yang dimanfaatkan sebagai hepatoprotektor dapat berasal dari bagian-bagian tanaman seperti daun, batang, buah, akar, bunga, dan biji (Kusharyanti *et al.*, 2012). Beberapa studi mengenai bahan alami dan aktivitasnya sebagai hepatoprotektor telah banyak dilakukan, diantaranya ialah srikaya, bunga matahari, kumis kucing, buah tin, rumput laut coklat, kunyit, biji anggur, tanaman ginkgo, dan tepung kedelai (Shenoy *et al.*, 2001; Saleem *et al.*, 2010; Khan, 2012; Al-Attar, 2015; Okafor dan Ebuehi, 2016). Kemampuan bahan alami tersebut sebagai hepatoprotektor dapat berlangsung melalui beberapa mekanisme, diantaranya adalah dengan adanya potensi antiinflamasi, kemampuan sebagai antioksidan, efek koleretik dan kolekinetik, meningkatkan regenerasi sel-sel hati dengan meningkatkan sintesis protein, dan menjaga integritas membran sel (Kusharyanti *et al.*, 2012). Pemanfaatan senyawa hepatoprotektor biasa digunakan sebagai terapi profilaksis, namun belum dapat dijadikan sebagai terapi pengobatan karena terdapat kelemahan dari segi standarisasi pengobatan dan identifikasi kandungan aktif di dalamnya (Saleem *et al.*, 2010).

2.5.2 Pengaruh Hepatoprotektor terhadap Kadar SGOT dan SGPT

Menurut Kusharyanti *et al.*, (2012), pengujian aktivitas hepatoprotektor dapat dilakukan baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Parameter yang dapat digunakan ialah kadar SGOT dan SGPT, enzim aminotransferase yang akan dilepaskan ke sirkulasi akibat perubahan permeabilitas membran sel hepar apabila terdapat intoksikasi terhadap jaringan hepar, infeksi oleh suatu mikroorganisme, dan mekanisme patologis lainnya. Enzim SGOT dan SGPT merupakan enzim intraselular pada jaringan hepar yang secara normal berfungsi untuk mengkatalis transfer gugus α -amino dari aspartat dan alanin secara berturut-turut menjadi gugus α -keto membentuk asam oksaloasetat dan asam piruvat (Engelking, 2011; Isselbacher *et al.*, 2015). Oleh karena itu, peningkatan kadar SGOT dan SGPT dapat menjadi indikator adanya kerusakan sel hepar, dalam hal ini peranan senyawa hepatoprotektor diharapkan dapat melindungi permeabilitas membran sel hepar sehingga tidak terjadi pelepasan enzim SGOT dan SGPT secara berlebihan (Kusharyanti *et al.*, 2012; Kwo *et al.*, 2016). Berkurangnya peningkatan kadar enzim tersebut menunjukkan bahwa terdapat mekanisme proteksi dari senyawa hepatoprotektor terhadap jaringan hepar, karena peningkatan kadar enzim tersebut berhubungan dengan progresivitas kerusakan hepatoselular (Nyblom *et al.*, 2006; Kusharyanti *et al.*, 2012).

2.6 Kacang Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.)

2.6.1 Definisi Kacang Kedelai

Kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) merupakan salah satu tanaman palawija yang digolongkan ke dalam famili *Leguminoceae*, sub famili *Papilionoidae* dengan karakter tanaman berbentuk semak pendek setinggi kurang lebih 30-100 cm (Hamzah, 2014). Klasifikasi tanaman kedelai adalah sebagai berikut (Gozalli, 2015):

Divisio : *Spermatophyta*
Classis : *Dicotyledonae*
Ordo : *Rosales*
Familia : *Papilionaceae*
Genus : *Glycine*
Species : *Glycine max* (L.) Merr.

2.6.2 Olahan Kacang Kedelai

Kacang kedelai banyak dimanfaatkan untuk menjadi bahan pangan melalui tahap pengolahan. Pengolahan kacang kedelai menjadi produk siap pangan diklasifikasikan menjadi dua kelompok, yakni produk olahan terfermentasi dan non fermentasi. Kandungan utama pada kedelai yang bersifat antioksidan seperti genistein, daidzein, dan glisitein terkandung dalam olahan pangan kedelai yang tidak terfermentasi, seperti olahan pangan berupa susu kedelai, tahu, minyak kedelai dan hasil olahannya, tepung kedelai, serta konsentrat dan isolat protein kedelai. Produk olahan kedelai yang terfermentasi seperti miso, tempe, kecap, dan tauco lebih dominan mengandung isoflavon dalam bentuk bebas (Coward *et al.*, 1998; Koswara, 2009).

2.6.3 Kandungan Kacang Kedelai

Kedelai merupakan salah satu golongan kacang-kacangan dengan kandungan utamanya isoflavon. Isoflavon yang terkandung dalam kacang kedelai memiliki efektivitas sebagai senyawa antioksidan utama dan sebagai anti-apoptosis. Sekitar dua belas isomer isoflavon terkandung dalam kacang kedelai yang secara struktural terbagi menjadi empat kelompok, antara lain dalam bentuk aglikon (daidzein, genistein, dan glisitein), glikosida terkonjugasi (daidzin, genistin, dan glisitin), malonil glukosida (6''-O-malonil daidzin, 6''-O-malonil genistin, dan 6''-O-asetil glisitin), dan asetil glukosida (6''-O-asetil daidzin, 6''-O-asetil genistin, dan 6''-O-asetil glisitin). Kedelai merupakan sumber pangan yang kaya akan kandungan isoflavon, mengandung sekitar 0,2-4,2 mg/g berat biji kedelai kering namun dapat bervariasi bergantung pada genotip, lokasi tumbuh,

dan usia tanaman. Isomer isoflavon dalam kacang kedelai yang terbanyak adalah isomer genistein sebanyak 18,76 mg/100 g kacang kedelai dan isomer daidzein sebanyak 12,86 mg/100 g kacang kedelai, sedangkan isomer glisitein terdapat dalam kacang kedelai hanya sebanyak 2,87 mg/100 g (Medic *et al.*, 2014; USDA, 2018). Kacang kedelai mengandung senyawa nutrisi lain yang belum banyak dibahas, beta karoten yang merupakan salah satu kandungan dalam kacang kedelai yang juga memiliki efektivitas sebagai antioksidan selain isoflavon dengan bertindak sebagai *scavenger* terhadap agen radikal bebas. Beta karoten terkandung sebanyak 8,2 g/100 g kacang kedelai basah (Kandlakunta *et al.*, 2008; Kusbandari dan Susanti, 2017).

Kacang kedelai memiliki beberapa kandungan nutrisi seperti bahan pangan yang lain yang turut menunjang efektivitasnya dalam menghambat stres oksidatif. Kacang kedelai mengandung protein kurang lebih 40-41% dari seluruh berat biji keringnya. Protein pada kacang kedelai dapat diklasifikasikan dalam empat kelompok berdasarkan peranannya, yaitu sebagai enzim metabolik, struktural (termasuk ribosom dan kromosom), membran, dan protein penyimpanan. Protein penyimpanan terhitung sebanyak 65-80% dari total protein pada kacang kedelai. Dua protein penyimpanan utama pada kacang kedelai adalah glisinin dan β -konglisinin. Peran utama kedua protein ini adalah sebagai sumber nitrogen amino untuk pertumbuhan biji. Selain protein, kacang kedelai mengandung lemak sebanyak 8,1–24,0% dari keseluruhan berat kering bijinya. Kandungan lemak pada kacang kedelai berfungsi sebagai penyimpanan energi untuk tanaman, konstituen membran, molekul sinyal, serta pertahanan terhadap patogen. Penyimpanan lemak disimpan terutama dalam bentuk triasilgliserol dalam badan lemak. Nutrisi lainnya, karbohidrat terkandung dalam kacang kedelai sebanyak 35% dari keseluruhan berat kering bijinya. Sekitar setengah dari total karbohidrat dalam kedelai merupakan karbohidrat struktural seperti selulosa, hemiselulosa, dan pektin; sedangkan sebagian lainnya merupakan karbohidrat nonstruktural seperti pati, monosakarida, disakarida, dan oligosakarida (Medic *et al.*, 2014). Kandungan nutrisi dalam kacang kedelai ditunjukkan dalam Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Kandungan nutrisi dalam kacang kedelai

Nutrien	Kandungan / 100g
protein	13,09 g
lemak total	6,7 g
karbohidrat	9,57 g
serat	1,1 g
daidzein	12,86 mg
genistein	18,76 mg
glisitein	2,87 mg
isoflavon total	34,39 mg

Sumber: USDA, 2018

Kacang kedelai lokal memiliki varian yang berbeda-beda dengan kandungan nutrisi yang berbeda-beda pula. Pemilihan dan penggunaan kacang kedelai yang tepat dapat mendukung hasil penelitian yang sesuai berdasarkan pada kandungan nutrisi yang diteliti dengan efek pemberian yang diharapkan. Nutrisi utama yang diharapkan dapat menjadi proteksi dini terhadap sel-sel hepar dalam penelitian ini adalah isoflavon. Kacang kedelai lokal varian Baluran memiliki kandungan isoflavon yang lebih tinggi dibandingkan dengan kacang kedelai lokal varian lainnya. Kandungan nutrisi dalam beberapa kacang kedelai lokal ditunjukkan dalam Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Perbandingan kandungan gizi kedelai lokal per setengah gelas (80 gram) bahan matang

Komposisi	Kacang Kedelai	% Kebutuhan Harian	Kedelai Hijau (Edamame)	% Kebutuhan Harian	Kedelai Kuning	% Kebutuhan Harian
	½ Gelas Sudah Dimasak		½ Gelas Sudah Dimasak		½ Gelas Sudah Dimasak	
kalori	194		127		148	
lemak total	9 g	14 %	6 g	9 %	8 g	12 %
lemak jenuh total	1 g	5 %	0,5 g	3 %	0 g	0 %
karbohidrat	14 g	5 %	10 g	3 %	8 g	2 %
protein	17 g	34 %	11 g	22 %	14 g	28 %
kolesterol	0 mg	0 %	0 mg	0 %	0 mg	0 %
natrium	1 mg	0 %	13 mg	1 %	0 mg	0 %
serat pangan	4 g	16 %	4 g	16 %	6 g	16 %
kalsium	60 mg	6 %	130 mg	13 %	88 mg	6 %
kalium	587 mg	17 %	485 mg	14 %	442 mg	17 %
fosfor	279 mg	28 %	142 mg	14 %	210 mg	28 %
folat	88 mcg	22 %	100 mcg	25 %	46 mcg	22 %
rerata total isoflavon	55 mg		49 mg		24 mg	

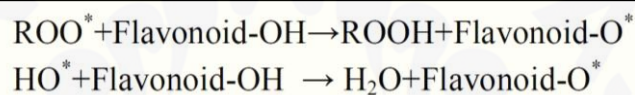
Sumber : Soyfoods Association of North America, 2005

2.6.4 Senyawa Antioksidan dan Antiapoptosis dalam Kacang Kedelai

Kacang kedelai mengandung nutrisi yang berfungsi utama sebagai antioksidan seperti isoflavon dan beta karoten (Kandlakunta *et al.*, 2008; Al-Ashaal *et al.*, 2012). Stres oksidatif terjadi akibat penumpukan senyawa ROS maupun RNS dalam tubuh yang tidak mampu distabilkan oleh senyawa antioksidan alami dalam tubuh. Agen radikal bebas ini cenderung mencari elektron berpasangan dengan mendegradasi nutrisi-nutrien dalam tubuh terutama asam lemak. Asam lemak tak jenuh, yang selanjutnya disebut *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) memiliki banyak ikatan rangkap sehingga lebih mudah untuk didegradasi oleh radikal bebas dan akan menyebabkan peroksidasi lemak yang menginduksi stres oksidatif (Lari *et al.*, 2013). Hal ini dapat dicegah dengan menambahkan senyawa antioksidan dari luar yang dapat berasal dari suplai makanan. Beta karoten merupakan salah satu kandungan antioksidan dalam kacang kedelai yang berperan dalam menangkal radikal bebas dengan bertindak sebagai *scavenger* terhadap agen radikal bebas secara langsung. Beta karoten memiliki reaktivitas yang tinggi terhadap radikal peroksil, hal ini akan kembali menstabilkan agen prooksidan dan antioksidan dalam tubuh untuk kembali dalam keadaan homeostasis sehingga stres oksidatif dapat tercegah (Desai *et al.*, 1997; Smith, 1998; Kusbandari dan Susanti, 2017). Sarada *et al.*, (2002) dalam penelitiannya menemukan bahwa pemberian beta karoten pada organisme yang diinduksi stres oksidatif menunjukkan penurunan kadar malondialdehid (MDA) dan peningkatan kadar *glutathione* (GSH). Malondialdehid (MDA) merupakan produk samping dari degradasi PUFA oleh radikal bebas yang menyebabkan peroksidasi lemak, dalam hal ini efek *scavenging* beta karoten menyebabkan inhibisi peroksidasi lemak sehingga tidak terjadi stres oksidatif (Sarada *et al.*, 2002).

Kandungan utama kacang kedelai, isoflavon memiliki efektivitas sebagai antioksidan dan anti-apoptosis. Mekanisme kerja ini terutama diperankan oleh genistein dan daidzein. Foti *et al.*, (2005) menyebutkan bahwa mekanisme antioksidan yang diperankan oleh genistein dan daidzein adalah dengan bertindak sebagai *scavenger* bagi agen radikal bebas, genistein memiliki efek *scavenging*

yang lebih kuat dibandingkan daidzein. Senyawa ini terutama bekerja sebagai *scavenger* pada agen radikal H_2O_2 , namun reaktivitasnya kurang baik pada agen peroksidasi lainnya. Daidzein memiliki kecenderungan untuk berperan sebagai *scavenger* dengan menghambat oksidasi lipoprotein (Foti *et al.*, 2005). Efek antioksidan oleh isoflavon yang merupakan senyawa flavonoid dalam kacang kedelai selain berperan melalui *scavenging* yakni melalui reaksi donor ion hidrogen. Donor ion hidrogen akan mengubah radikal peroksidil dan radikal hidroksil sehingga terbentuk senyawa radikal flavonoid yang relatif lebih stabil (Lee *et al.*, 2004; Astuti, 2008). Reaksi donor ion hidrogen oleh flavonoid pada senyawa radikal hidroksil dan radikal peroksidil ditunjukkan dalam Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Donor ion hidrogen oleh senyawa flavonoid (Astuti, 2008)

Isoflavon genistein dan daidzen bekerja sebagai anti-apoptosis dengan menurunkan aktivitas protein *Bax* pada membran mitokondria yang merupakan protein pro-apoptosis melalui *pore-forming* dan stimulasi pengeluaran sitokrom c ke sitoplasma. Selain itu, kedua senyawa isoflavon ini bekerja dengan menurunkan aktivitas kaspase-3 yang menyebabkan kerusakan DNA dengan mendegradasinya menjadi unit-unit nukleosom. Senyawa isoflavon ini turut meregulasi kelangsungan hidup sel yang terpapar agen pro-apoptosis. Song (2015) dalam penelitiannya menemukan bahwa pemberian isoflavon genistein dan daidzein dapat menurunkan efek apoptosis dengan mencegah kerusakan DNA yang diakibatkan oleh aktivasi kaspase-3 (Adams *et al.*, 2012; Song *et al.*, 2015).

2.7 Tepung Kedelai

2.7.1 Definisi Tepung Kedelai

Tepung kedelai atau *soy flour* adalah tepung yang dibuat dari kacang kedelai melalui tahapan pengolahan yang diawali dengan pengeringan, kemudian dihaluskan dan diayak hingga diperoleh sediaan tepung kedelai yang halus. Pengolahan bahan makanan menjadi sediaan produk setengah jadi seperti tepung

merupakan salah satu cara pengawetan hasil pangan, terutama untuk komoditas yang berkadar air tinggi, seperti aneka umbi dan buah. Keuntungan lain dari pengolahan produk pangan menjadi tepung yaitu sebagai bahan baku yang fleksibel untuk industri pengolahan lanjutan, aman dalam distribusi, serta menghemat ruangan dan biaya penyimpanan (Widowati, 2007; Warisno dan Dahana, 2010; Cahyani *et al.*, 2012).

2.7.2 Kandungan dalam Tepung Kedelai

Tepung kedelai mengandung sekitar 40-50% protein, dengan kandungan utamanya yakni isoflavon (Warisno dan Dahana, 2010). Bhagwat *et al.*, (2008) dalam jurnalnya menyebutkan bahwa kacang kedelai yang diolah menjadi tepung memiliki kandungan isoflavon yang lebih tinggi dibandingkan dengan kedelai mentah maupun olahan kacang kedelai yang sudah diolah menjadi produk olahan lainnya (Bhagwat *et al.*, 2008). Kandungan isoflavon dalam tepung kedelai dan olahan kedelai lainnya ditunjukkan dalam Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Kandungan isoflavon pada tepung kedelai dan kedelai

No	Olahan kedelai	Daidzein	Genistein	Glycitein	Total isoflavon
1	<i>soy flour (textured)</i>	67,69	69,42	20,02	172,55
2	<i>soy flour (defatted)</i>	64,55	87,31	15,08	150,94
3	<i>soy flour (full-fat, raw)</i>	72,92	98,77	16,12	178,10
4	<i>soybean (curd, fermented)</i>	12,18	21,12	2,30	34,68
5	<i>soybean (flakes, defatted)</i>	37,47	91,22	14,23	131,53
6.	<i>soybean (flakes, full-fat)</i>	21,75	39,57	1,12	62,31

Sumber: Bhagwat *et al.*, (2008)

Senyawa antioksidan dan antiapoptosis dalam kacang kedelai sebagai hepatoprotektor telah diteliti. Hasil penelitian Okafor dan Ebuehi (2016) menunjukkan bahwa pemberian tepung kedelai dalam sediaan roti dengan dosis 10%, 20%, 30%, dan 40% selama 28 hari memiliki aktivitas antioksidan dan hepatoprotektor yang ditunjukkan dengan penurunan kadar MDA, SGOT, SGPT, ALP, serta penurunan aktivitas SOD dan katalase (Okafor dan Ebuehi, 2016). Dalam studi yang lain, hasil penelitian Khan (2012) menunjukkan bahwa diet tepung kedelai sebagai terapi preventif selama 7 hari dengan dosis 10% dan 15%

mampu menghambat peningkatan *lipid peroxidation* (LPO), *xanthine oxidase* (XO), MDA, dan enzim penanda hepatotoksisitas seperti SGOT, SGPT, dan LDH (Khan, 2012).

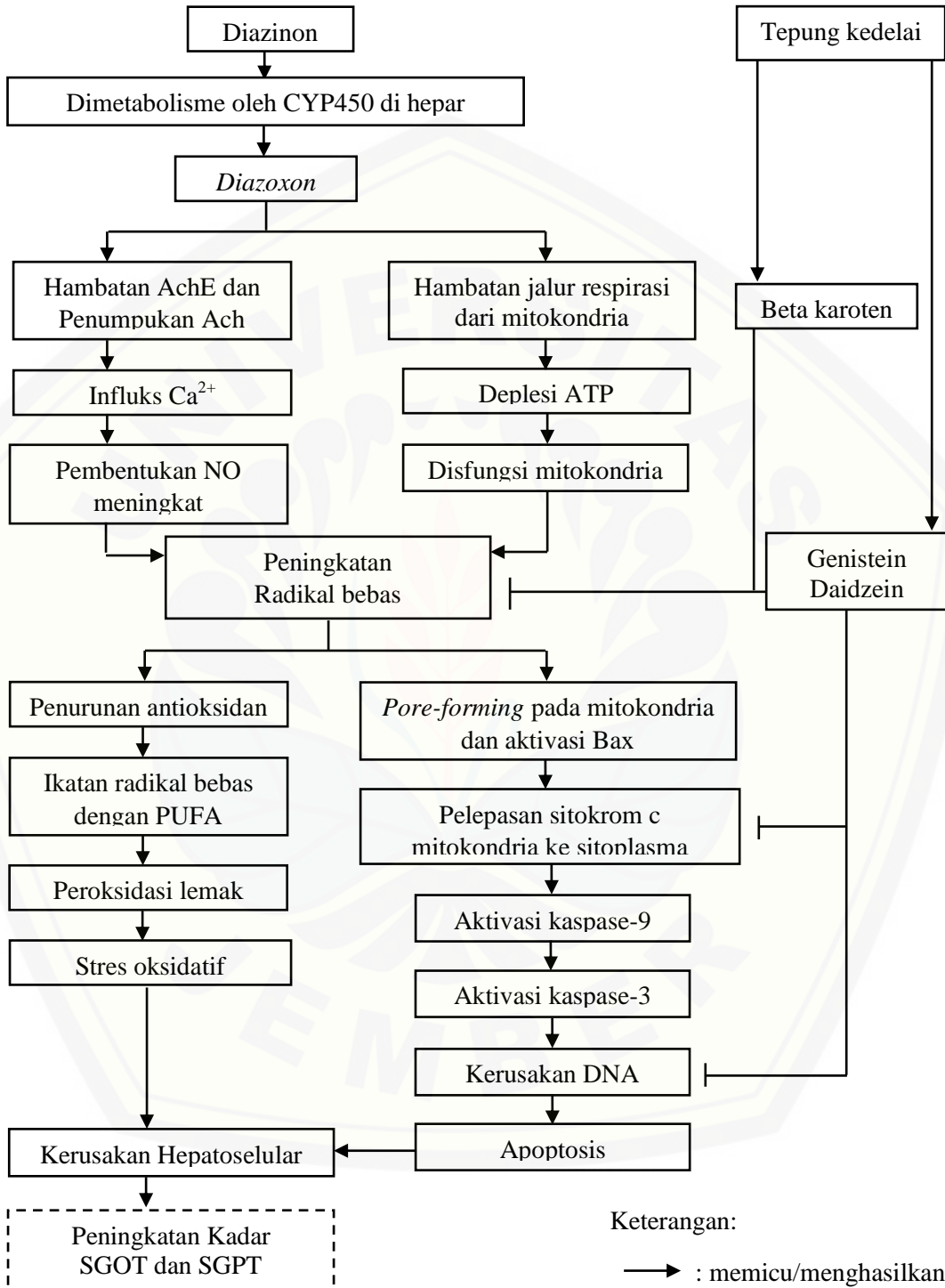
2.7.3 Metode Penepungan

Kacang kedelai dikenal sebagai salah satu sumber pangan dengan tahap pengolahan yang berbeda-beda bergantung pada jenis produk olahannya. Tepung kedelai merupakan salah satu alternatif produk setengah jadi dari kedelai yang melalui tahap pengolahan secara praktis namun menghasilkan produk yang tahan lama melalui proses penghalusan menjadi butiran tepung yang didahului proses pengeringan (Adiandri *et al.*, 2014).

Metode penepungan yang digunakan dalam industri pembuatan tepung terdapat dua jenis, yakni metode penepungan basah dan kering. Kedua metode ini berbeda dalam tahap perendaman bahan, pada metode penepungan basah sediaan bahan direndam terlebih dahulu sebelum ditepungkan, sedangkan pada metode kering tidak dilakukan perendaman. Metode penepungan basah merupakan metode yang lebih aplikatif digunakan oleh masyarakat dan industri kecil maupun menengah, sedangkan metode kering cenderung digunakan dalam pembuatan tepung skala besar. Pembuatan tepung kedelai dengan metode penepungan basah dapat menghasilkan sekitar 750 gram tepung kedelai dari 1000 gram kacang kedelai kering (Warisno dan Dahana, 2010; Hariadi *et al.*, 2012).

2.8 Kerangka Teori

Kerangka teori penelitian ini ditunjukkan dalam Gambar 2.9 sebagai berikut.



Gambar 2.9 Kerangka teori

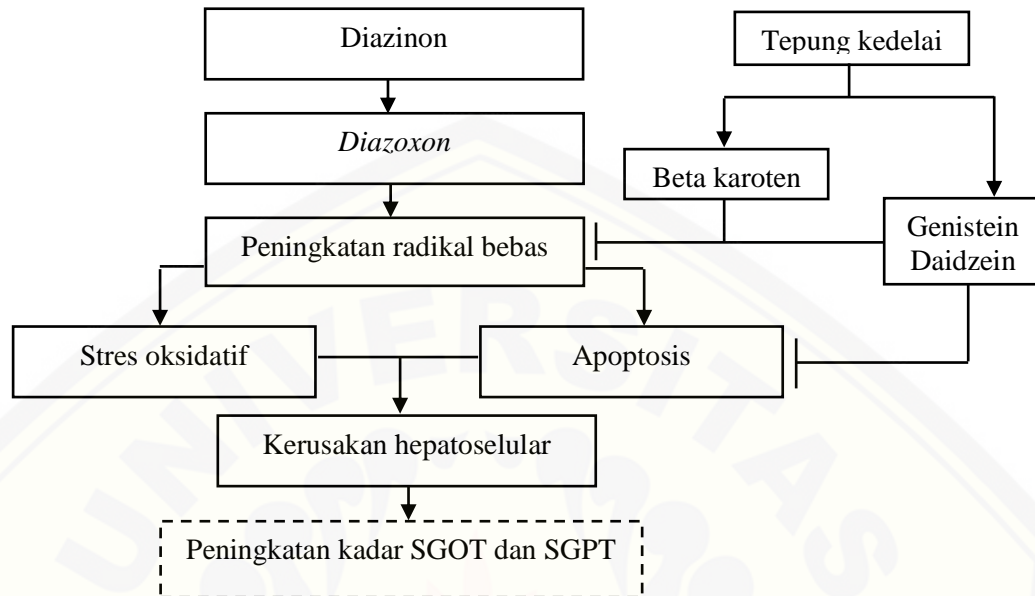
Diazinon akan mengalami metabolisme menjadi *diazoxon* yang dimediasi oleh sitokrom P450 di hepar. Diazoxon akan bekerja menghambat AChE sehingga terjadi penumpukan *neurotransmitter* ACh. Hal ini akan menyebabkan influks Ca^{2+} yang selanjutnya akan berikatan dengan CaM untuk melakukan pembentukan *nitric oxide* (NO). *Nitric oxide* (NO) merupakan senyawa pro-oksidan yang secara alami terbentuk di dalam tubuh, namun apabila jumlahnya meningkat tidak diimbangi dengan peningkatan antioksidan dalam tubuh, dapat menyebabkan penipisan antioksidan dan peningkatan agen radikal bebas. Hasil metabolisme diazinon, *diazoxon* akan mengganggu sistem redoks sehingga terjadi hambatan pada jalur respirasi mitokondria yang menyebabkan hambatan pembentukan ATP dan deplesi ATP. Hal ini akan menyebabkan disfungsi mitokondria yang menginduksi pembentukan agen radikal bebas.

Peningkatan agen radikal bebas akan menyebabkan penurunan kadar antioksidan dalam tubuh, sehingga agen radikal tersebut akan mendegradasi PUFA menyebabkan peroksidasi lemak yang menginduksi stres oksidatif. Interaksi antara agen radikal bebas dengan membran mitokondria akan menyebabkan pembetukan PT *pore* dan aktivasi protein pro-apoptosis *Bax*, hal ini akan menyebabkan pelepasan sitokrom c ke sitoplasma. Sitokrom c akan berikatan dengan APAF-1, prokaspase-9, dan ATP membentuk kompleks apoptosom. Apoptosom bekerja dengan mengaktivasi kaspase-9 yang selanjutnya akan terjadi aktivasi kaspase-3. Kaspase-3 bekerja dengan mendegradasi struktur DNA sehingga terjadi kematian sel (apoptosis). Kedua hal ini (apoptosis dan stres oksidatif) akan menyebabkan kerusakan hepatoselular, yang dapat bermanifestasi pada peningkatan kadar SGOT dan SGPT.

Senyawa beta karoten dan isoflavon genistein dan daidzein dalam tepung kedelai memiliki aktivitas *scavenging* terhadap agen radikal bebas, sedangkan isoflavon genistein dan daidzein sendiri memiliki efektivitas dalam menghambat kerusakan jaringan akibat apoptosis dengan menghambat pelepasan sitokrom c ke sitoplasma dan menghambat kerusakan DNA akibat aktivasi kaspase 3. Kedua mekanisme tersebut mencegah kerusakan hepatoseluler sehingga tidak terjadi peningkatan kadar SGOT dan SGPT.

2.9 Kerangka Konsep

Kerangka konsep penelitian ditunjukkan dalam Gambar 2.10 sebagai berikut.



Keterangan:

- : memicu/menghasilkan
- | : menghambat
- : variabel yang diteliti

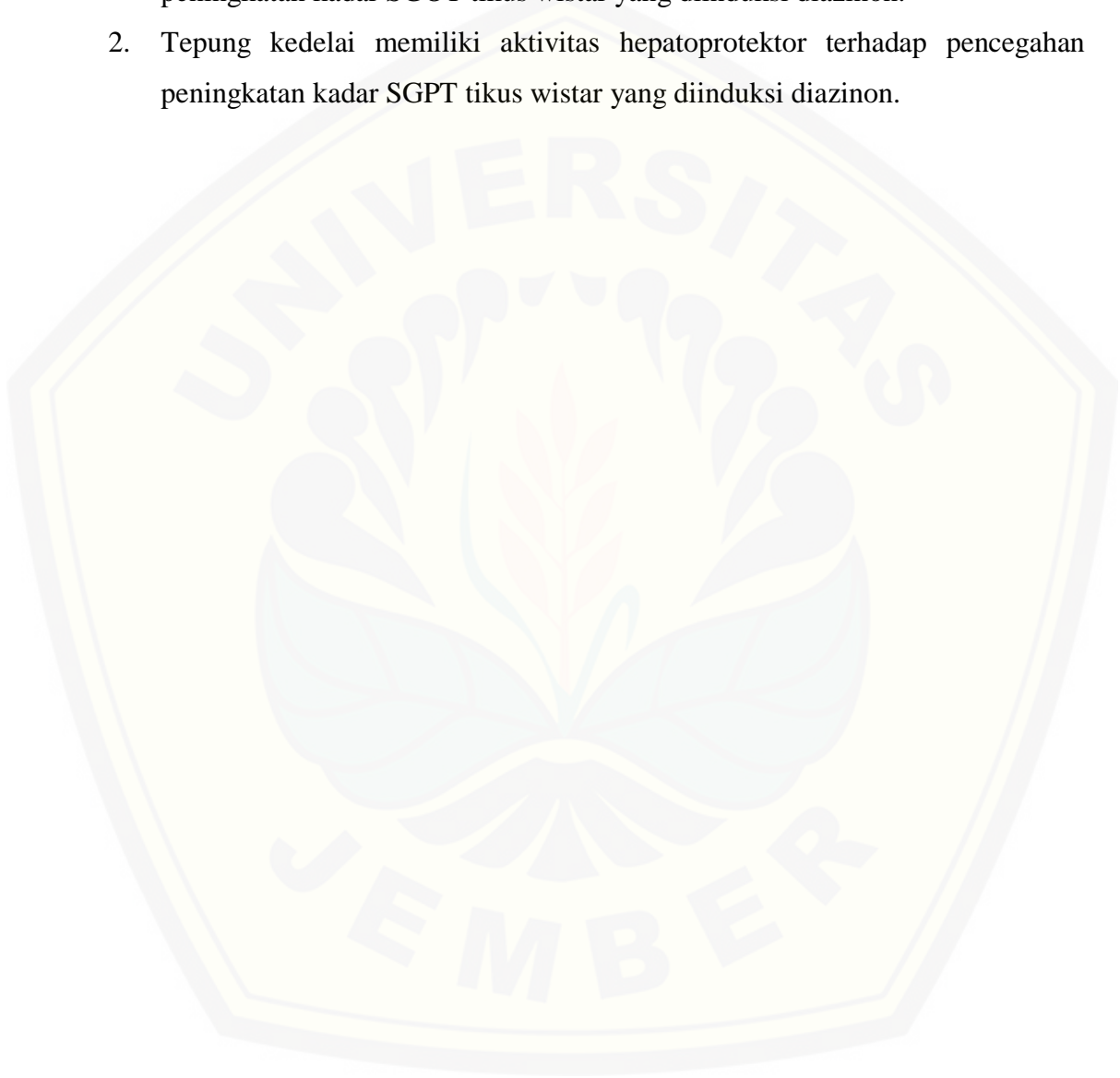
Gambar 2.10 Kerangka konsep

Diazinon adalah senyawa insektisida golongan organofosfat yang akan menjadi lebih reaktif ketika termetabolisme menjadi *diazoxon* oleh sitokrom P450 di jaringan hepar. *Diazoxon* merupakan senyawa metabolit aktif dari diazinon yang memiliki toksisitas tinggi terhadap struktur sel dan jaringan hepar melalui stres oksidatif dan mekanisme apoptosis, hal ini dapat bermanifestasi pada peningkatan kadar SGOT dan SGPT. Tepung kedelai merupakan salah satu produk olahan bahan pangan yang diketahui memiliki kandungan beta karoten dan isoflavon terutama genistein dan daidzein yang dapat bertindak sebagai antioksidan dan anti-apoptosis. Tepung kedelai yang diinduksikan kepada hewan coba akan bertindak sebagai hepatoprotektor sehingga stres oksidatif dan apoptosis dapat tercegah dan tidak terjadi kerusakan hepatoselular yang menyebabkan peningkatan kadar SGOT dan SGPT.

2.10 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah dan landasan teori yang telah disampaikan di atas, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Tepung kedelai memiliki aktivitas hepatoprotektor terhadap pencegahan peningkatan kadar SGOT tikus wistar yang diinduksi diazinon.
2. Tepung kedelai memiliki aktivitas hepatoprotektor terhadap pencegahan peningkatan kadar SGPT tikus wistar yang diinduksi diazinon.



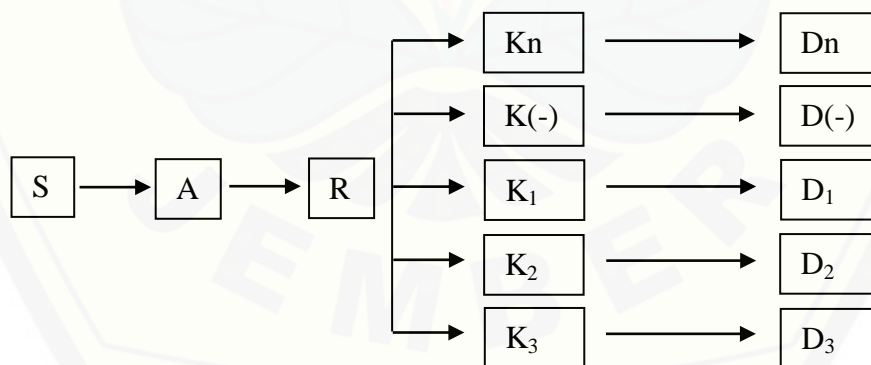
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental semu (*quasi experimental laboratories*) dengan rancangan *post test only randomized control group design*. Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental semu karena terdapat variabel pengganggu dalam penelitian yang tidak dapat dikondisikan sepenuhnya oleh peneliti. Peneliti memilih rancangan *post test only* karena dalam pembagian kelompok penelitian terdapat kelompok kontrol yang dapat digunakan sebagai standar bagi kelompok lainnya. (Sugiyono, 2011).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian *post test only control group design*. Penilaian hanya dilakukan secara *post test*, yakni setelah pemberian tepung kedelai dan induksi diazinon. Hasil penelitian selanjutnya dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Secara sistematis rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Keterangan :

- | | |
|---|---|
| S : Sampel | K ₃ : Kelompok tepung kedelai 20% dan diazinon |
| A : Adaptasi (7 hari) | D _n : Kadar SGOT dan SGPT K _n |
| R : Randomisasi | D ₍₋₎ : Kadar SGOT dan SGPT K ₍₋₎ |
| K _n : Kelompok (kel.) kontrol normal | D ₁ : Kadar SGOT dan SGPT K ₁ |
| K ₍₋₎ : Kel. kontrol negatif (diazinon) | D ₂ : Kadar SGOT dan SGPT K ₂ |
| K ₁ : Kel. tepung kedelai 10% dan diazinon | D ₃ : Kadar SGOT dan SGPT K ₃ |
| K ₂ : Kel. tepung kedelai 15% dan diazinon | |

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

3.3 Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian adalah tikus spesies wistar jantan (*Rattus norvegicus*). Dalam menentukan sampel hewan coba yang digunakan dalam penelitian, peneliti menentukan kriteria inklusi dan eksklusi untuk menentukan kelayakan sampel digunakan dalam penelitian serta menghindari adanya bias. Kriteria inklusi dalam penelitian ini meliputi spesies wistar (*Rattus norvegicus*) yang berjenis kelamin jantan, tikus sehat, dan usia 12-16 minggu dengan berat badan 150-300 gram; sedangkan kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah tikus yang menunjukkan perilaku tidak normal atau tidak bergerak aktif. Sampel hewan coba dirandomisasi untuk dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Jumlah pengulangan hewan coba di setiap kelompok ditentukan berdasarkan rumus Federer, yaitu:

$$\begin{aligned}(t-1)(r-1) &\geq 15 \\ (5-1)(r-1) &\geq 15 \\ 4(r-1) &\geq 15 \\ r &\geq 4,75 \approx 5\end{aligned}$$

Simbol “t” menunjukkan jumlah perlakuan dan simbol “r” menunjukkan banyaknya replikasi (pengulangan) pada setiap kelompok perlakuan. Hasil perhitungan menurut rumus Federer menunjukkan jumlah hewan coba yang digunakan sebanyak lima ekor tikus untuk masing-masing kelompok. Sebagai upayaantisipasi adanya hewan coba yang *drop out* karena mati atau menghilang dalam masa perlakuan, maka dilakukan penghitungan besar sampel koreksi dengan rumus sebagai berikut.

$$\begin{aligned}N &= n/(1-f) \\ N &= 5/(1-10\%) \\ N &= 5/(1-0,1) \\ N &= 5/0,9 \\ N &= 5,56 \\ N &\approx 6\end{aligned}$$

Simbol “N” menunjukkan jumlah sampel koreksi, simbol “n” menunjukkan jumlah sampel awal berdasarkan rumus Federer sebelumnya, dan simbol “f” menunjukkan perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10%. Hasil perhitungan jumlah sampel setiap kelompok sebanyak 6 ekor, dengan jumlah kelompok perlakuan

sebanyak 5 kelompok. Oleh karena itu, jumlah keseluruhan hewan coba yang digunakan dalam penelitian sebanyak 30 ekor tikus.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di empat lokasi, meliputi Lab. Teknologi Benih dan Produksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Jember untuk determinasi kacang kedelai, Lab. Rekayasa Proses Hasil Pertanian (RPHP) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember untuk pembuatan tepung, Lab. Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan dan perlakuan tikus, serta Lab. Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT. Penelitian dilaksanakan selama lebih kurang 70 hari yang terdiri dari 21 hari persiapan perlakuan, 40 hari perawatan dan perlakuan hewan coba, dan 9 hari pengambilan dan analisis data. Pembagian waktu pelaksanaan penelitian ditunjukkan dalam Tabel 3.1, Tabel 3.2, dan Tabel 3.3 sebagai berikut.

Tabel 3.1 *Time table* persiapan perlakuan hewan coba

	Determinasi Kacang Kedelai	Pembuatan Tepung Kedelai
Waktu Pelaksanaan	14 hari	7 hari

Tabel 3.2 *Time table* perawatan dan perlakuan hewan coba

	Adaptasi Hewan Coba	Induksi Tepung Kedelai	Induksi Diazinon
Waktu Pelaksanaan	7 hari	28 hari	5 hari

Tabel 3.3 *Time table* pengambilan dan analisis data

	Terminasi dan Persiapan Pemeriksaan SGOT dan SGPT	Pemeriksaan Biokimia SGOT dan SGPT	Analisis Data
Waktu Pelaksanaan	1 hari	1 hari	7 hari

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian dosis tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) pada tikus wistar jantan sebesar 10%, 15%, dan 20%.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar SGOT dan SGPT tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*).

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini antara lain:

a. Usia hewan coba.

Usia merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kadar SGOT dan SGPT. Usia hewan coba dalam penelitian ini ialah 12-16 minggu. Perubahan usia tikus wistar dapat menyebabkan peningkatan kadar SGOT dan SGPT. Perubahan kadar SGOT dan SGPT yang signifikan didapatkan pada tikus wistar jantan setelah usia 30 minggu (Conigrave *et al.*, 2003; Fukuda *et al.*, 2004).

b. Jenis kelamin hewan coba

Jenis kelamin tikus yang digunakan dalam penelitian ini ialah jenis kelamin jantan. Terdapat perbedaan kadar SGOT dan SGPT antara jenis kelamin jantan dan betina dengan perbedaan yang tidak signifikan pada kelompok umur yang sama (Boehm *et al.*, 2007; Sihombing dan Tuminah, 2011). Perbedaan kadar enzim dapat terjadi akibat perbedaan hormonal antara tikus jantan dan betina. Sener *et al.*, (2005) menyebutkan bahwa estrogen memiliki aktivitas protektif terhadap hepar, sehingga penggunaan jenis kelamin betina dapat menyebabkan bias dalam penelitian ini.

c. Berat badan hewan coba

Indeks massa tubuh memiliki pengaruh terhadap kadar enzim hepar. Obesitas merupakan salah satu faktor penting yang dapat menyebabkan peningkatan kadar enzim SGOT dan SGPT (Lee *et al.*, 2001; Conigrave *et al.*, 2003). Berat badan hewan coba dalam penelitian ini ialah 150-300 gram, berat badan ideal tikus wistar dewasa yang biasa digunakan dalam penelitian enzim hepatic (Khan *et al.*, 2011; Ugbor *et al.*, 2013; Uzzi dan Grillo, 2013).

- d. Pemeliharaan dan perlakuan pada hewan coba
- e. Waktu dan lama perlakuan hewan coba
- f. Dosis, frekuensi, dan rute pemberian diazinon

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Tepung Kedelai

Tepung kedelai diperoleh dari kacang kedelai yang telah dikeringkan dan dihaluskan hingga terbentuk sediaan tepung. Metode yang digunakan untuk pengolahan tepung adalah metode penepungan basah. Jenis kedelai yang digunakan adalah spesies *Glycine max* (L.) Merr., merupakan kedelai lokal varian Baluran yang diperoleh dari Pasar Tanjung Jember.

3.6.2 Kadar SGOT dan SGPT

Pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT hepar tikus *Rattus norvegicus* dilakukan dengan mengambil sampel darah secara intrakardiak dilanjutkan dengan pemeriksaan menggunakan reagen SGOT dan SGPT dengan nama merk kit DIALAB. Kadar SGOT dan SGPT didapatkan dengan mengetahui kadar absorbansi sampel menggunakan alat *bioanalyzer* pada panjang gelombang 340 nm. Data yang didapatkan merupakan data numerik dalam skala rasio dengan satuan U/L.

3.6.3 Induksi Diazinon

Diazinon diberikan kepada hewan coba secara per oral dengan dosis 40mg/kgBB satu kali sehari selama 5 hari. Diazinon yang digunakan merupakan sediaan cair dengan dosis 600g/L yang dilarutkan menggunakan *corn oil* dengan perbandingan 1 mL diazinon dan 15 mL untuk mendapatkan sediaan dosis 40mg/kgBB. *Corn oil* yang digunakan diperoleh dari Pasar Tanjung Jember dengan nama merk Mazola. Diazinon yang digunakan diperoleh dari Toko Pertanian Pasar Tanjung Jember dengan nama merk Diazinon 600 EC yang diproduksi oleh PT Petrokimia Kayaku Gresik.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah:

- a. Alat untuk pemeliharaan tikus adalah bak plastik, penutup kawat, tempat makan, botol minum, dan label tikus.
- b. Alat untuk pembuatan tepung kedelai adalah ayakan 80 mesh, alat-alat gelas, oven, termometer, *Colour Reader*, *Minolta Cr-10*, sohxlet, tanur, dan neraca analitik.
- c. Alat untuk pemberian tepung kedelai adalah *beaker glass*, pengaduk, spuit sonde, dan *handscoon*.
- d. Alat untuk pemberian diazinon adalah *beaker glass*, pengaduk, spuit sonde, dan *handscoon*.
- e. Alat untuk terminasi tikus adalah papan fiksasi, jarum fiksasi, tabung eter, dan pisau bedah.
- f. Alat untuk mengambil darah dari jantung tikus adalah *spuit* 5 cc dan tabung *sentrifuge*.
- g. Alat untuk melakukan pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT adalah tabung *sentrifuge*, alat *sentrifuge*, mikropipet, tip, vortex, tabung cuvet, dan spektrofotometer.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah:

- a. Bahan untuk pemeliharaan tikus adalah makanan *pellet*, air, dan sekam kering.
- b. Bahan untuk pembuatan tepung kedelai adalah kacang kedelai lokal varian Baluran.
- c. Bahan untuk pemberian kelompok kontrol dan perlakuan adalah tepung kedelai, akuades, dan normal salin.
- d. Bahan untuk induksi diazinon adalah diazinon dan *corn oil*.
- e. Bahan untuk melakukan pengukuran kadar SGOT adalah reagen 1 SGOT DIALAB (terdiri dari Tris 110 mmol/L dengan pH 7,8; L-

aspartate 340 mmol/L; MDH (*Malate Dehydrogenase*) 0,5 kU/L; dan LDH (*Lactate Dehydrogenate*) 1,1 kU/L) dan reagen 2 SGOT (terdiri dari 2-*Oxoglutarate* 85 mmol/L dan NADH \geq 1 mmol/L).

- f. Bahan untuk melakukan pengukuran kadar SGPT adalah reagen 1 SGPT DIALAB (terdiri dari Tris 138 mmol/L dengan pH 7,5; *L-alanine* 709 mmol/L; dan dan LDH (*Lactate Dehydrogenase*) 1500 U/L) dan reagen 2 SGPT (terdiri dari 2-*Oxoglutarate* 85 mmol/L dan NADH \geq 1 mmol/L).

3.8 Prosedur Penelitian

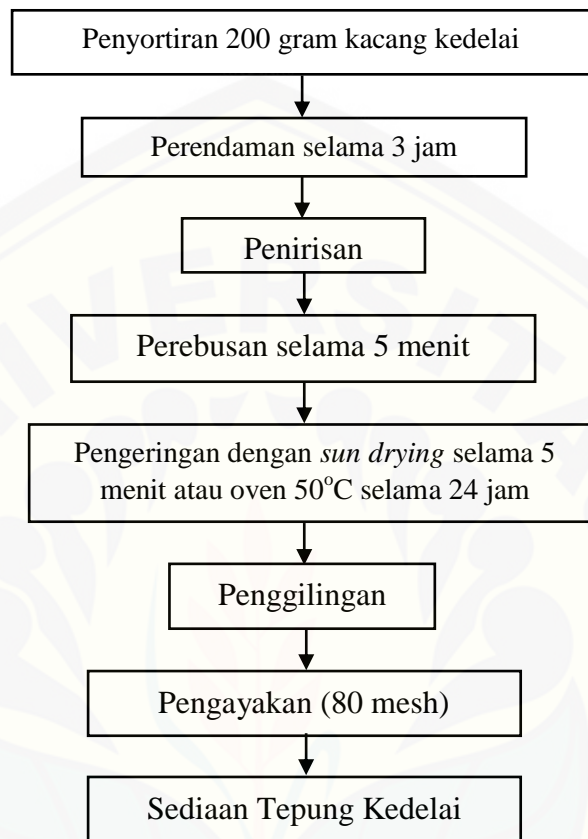
3.8.1 Uji Kelayakan Etik

Subjek penelitian dalam penelitian ini adalah hewan coba tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang sebelumnya harus mendapatkan persetujuan dan sertifikat kelayakan etik, sehingga perlu diajukan terlebih dahulu kepada Komisi Etik Kedokteran. Pengajuan kelayakan etik penelitian ini bertujuan untuk menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba dalam penelitian, melindungi hewan coba sebagai subjek penelitian, serta memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti dalam penelitian. Lembar keterangan persetujuan etik terlampir dalam Lampiran 3.1. Penelitian telah melalui uji plagiasi, keterangan hasil uji plagiasi ditunjukkan pada surat rekomendasi KOMBI pada Lampiran 3.2.

3.8.2 Pembuatan Tepung Kedelai

Pembuatan tepung kedelai dilakukan di Laboratorium RPHP Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Prosedur tersebut diawali dengan determinasi kacang kedelai di Laboratorium Teknologi Benih dan Produksi Tanaman Fakultas Pertanian UNEJ untuk mengidentifikasi varian dan nama spesies kacang kedelai yang digunakan. Hasil determinasi tanaman terlampir dalam Lampiran 3.3. Kacang kedelai yang telah dideterminasi diproses menjadi tepung kedelai melalui perendaman, perebusan, pengeringan, dan penggilingan (Warisno dan Dahana, 2010). Tahapan pembuatan tepung kedelai secara lengkap

dicantumkan dalam Lampiran 3.4 dan skema pembuatan tepung kedelai ditunjukkan dalam Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema pembuatan tepung kedelai

3.8.3 Perawatan Hewan Coba

Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba didampingi oleh tenaga analis laboratorium dan dosen pembimbing penelitian. Untuk menjamin keamanan peneliti, peneliti dan pendamping penelitian menggunakan alat pelindung diri (APD) selama pemeliharaan dan perlakuan hewan coba antara lain jas laboratorium, masker, sarung tangan (*handscoon*) lateks, dan sarung tangan kain pada kedua tangan. Hewan coba terlebih dahulu diadaptasi selama tujuh hari di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba ditempatkan dalam sebuah kotak kandang berukuran 45 x 30 x 20 cm dengan alas sekam kering. Setiap kotak

masing-masing berisi satu ekor hewan coba dengan pemberian makanan *pellet* dan minuman akuades secara *ad libitum* pada setiap kotak kandang.

Sejumlah 30 ekor tikus wistar jantan ditentukan berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Hewan coba yang digunakan sebagai sampel adalah tikus wistar yang berusia 12-16 minggu karena pada usia tersebut tikus wistar dalam kondisi yang matur dan berjenis kelamin jantan karena relatif lebih kuat dan tidak terganggu oleh hormon menstruasi maupun kehamilan. Berat badan tikus yang digunakan adalah 150-300 gram karena merupakan berat badan ideal dengan luas permukaan besar sehingga memudahkan hewan coba untuk beradaptasi.

Hewan coba dirandomisasi dan dibagi menjadi lima kelompok. Masa perawatan dan perlakuan hewan coba dilakukan selama 40 hari, terdiri dari adaptasi selama 7 hari dilanjutkan dengan perlakuan selama 33 hari (pemberian tepung kedelai selama 28 hari dan induksi diazinon selama 5 hari) (Wulandari, 2006; Khan, 2012; Okafor dan Ebuehi, 2016). Kelompok perlakuan berjumlah 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 6 tikus. Pembagian kelompok perlakuan tikus ditunjukkan pada Tabel 3.4.

Tabel 3.4 Pembagian kelompok perlakuan

Nama Kelompok	Perlakuan yang Diberikan
Kelompok K _n	Pemberian normal salin pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-33
Kelompok K ₍₋₎	1. Pemberian normal salin pada hari ke-1 selama 28 hari. 2. Pemberian diazinon 40mg/kgBB per oral sejak hari ke-29 selama 5 hari.
Kelompok K ₁	1. Pemberian tepung kedelai 10% per oral pada hari ke-1 selama 28 hari. 2. Pemberian diazinon 40mg/kgBB per oral pada hari ke-29 selama 5 hari.
Kelompok K ₂	1. Pemberian tepung kedelai 15% per oral pada hari ke-1 selama 28 hari. 2. Pemberian diazinon 40mg/kgBB per oral pada hari ke-29 selama 5 hari.
Kelompok K ₃	1. Pemberian tepung kedelai 20% per oral pada hari ke-1 selama 28 hari. 2. Pemberian diazinon 40mg/kgBB per oral pada hari ke-29 selama 5 hari.

3.8.4 Terminasi Hewan Coba

Seluruh hewan coba yang telah diberikan perlakuan selama 33 hari selanjutnya diterminasi untuk kebutuhan pengambilan sampel pemeriksaan. Terminasi pada hewan coba dilakukan sesuai dengan cara yang diatur dalam kode etik penggunaan hewan coba yaitu dianastesi menggunakan dieti eter. Hewan coba yang telah mati selanjutnya dikremasi (dibakar) dan dikubur dalam tanah

dengan kedalaman 50 cm. Tahapan terminasi hewan coba secara lengkap dicantumkan dalam Lampiran 3.8.

3.8.5 Pemberian Tepung Kedelai

Tepung kedelai diberikan kepada hewan coba dengan dosis 10%, 15%, dan 20% secara per oral menggunakan sonde lambung selama 28 hari setelah adaptasi selama 7 hari pada kelompok K₁, K₂, dan K₃. Tepung kedelai dilarutkan ke dalam akuades sebelum diberikan kepada hewan coba di masing-masing kelompok perlakuan. Tepung kedelai diberikan sebanyak 10 mL setiap hari, namun karena kapasitas maksimal lambung tikus sebesar 5 mL, maka tepung kedelai diberikan dua kali sehari yakni pada pagi dan sore hari (Suhardjono, 1995; Khan, 2012; Okafor dan Ebuehi, 2016).

3.8.6 Penginduksian Diazinon

Pemberian diazinon diberikan kepada tikus dengan dosis 40 mg/KgBB selama 5 hari yang terlebih dahulu dilarutkan dalam *corn oil* hingga didapatkan sediaan dosis tersebut. Perhitungan komponen larutan diazinon dan *corn oil* ditunjukkan dalam Lampiran 3.6 dan 3.7. Diazinon memiliki kelarutan yang tinggi dalam lemak dan kelarutannya rendah dalam air sehingga perlu dilarutkan dalam *corn oil* untuk mendapatkan dosis induksi yang diinginkan (Wulandari, 2006; Moshiri, 2013).

3.8.7 Pemeriksaan SGOT dan SGPT

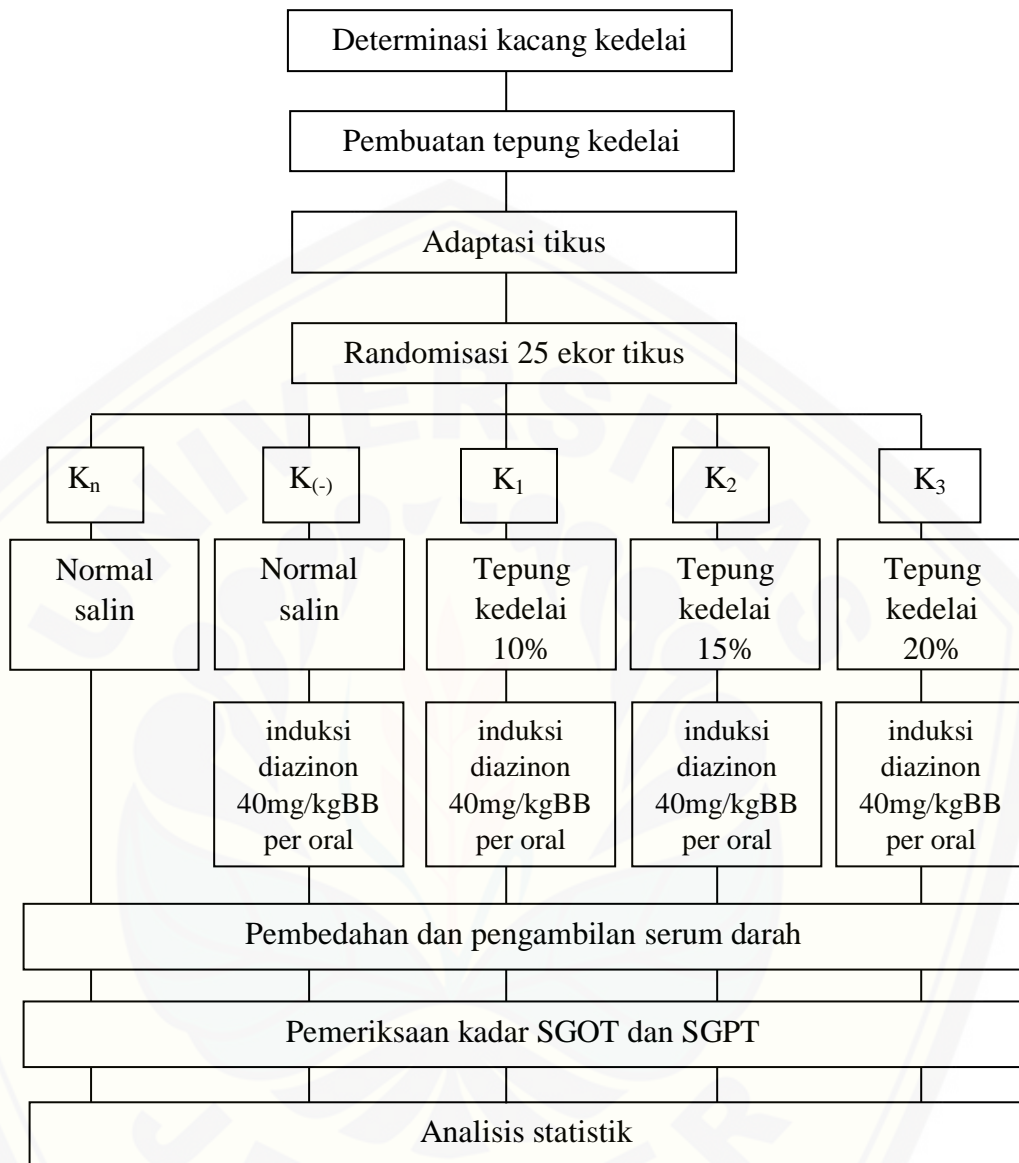
Pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT dilakukan setelah proses terminasi pada semua sampel penelitian dengan mengambil darah tikus secara intrakardiak. Spesimen darah disentrifugasi dan diukur kadar SGOT dan SGPTnya dengan menggunakan reagen 1 dan 2 pada masing-masing pemeriksaan. Metode pengukuran yang digunakan adalah metode kinetik IFCC dengan menggunakan alat *bioanalyzer* (Wagner, 2016a; Wagner, 2016b). Reagen kerja dipertahankan dalam suhu 37°C terlebih dahulu, kemudian sebanyak 1000 µl ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 100 µl serum. Campuran tersebut dipindahkan ke

dalam tabung cuvet untuk dibaca nilai absorbansinya dengan alat *bioanalyzer* pada panjang gelombang 340 nm. Hasil pembacaan berupa kadar SGOT dan SGPT dalam satuan U/L (Wagner, 2016a; Wagner, 2016b). Langkah-langkah pemeriksaan SGOT dan SGPT secara lengkap dicantumkan dalam Lampiran 3.9 dan 3.10.

3.9 Analisis Data

Data hasil penelitian diperoleh dengan menghitung kadar SGOT dan SGPT tikus wistar jantan yang dianalisis secara komputerisasi dengan perangkat lunak *SPSS 24.0 for Windows*. Peneliti menggunakan uji komparasi dalam menganalisis data hasil penelitian untuk menilai adanya perbedaan efek perlakuan pada masing-masing kelompok. Uji analisis diawali dengan melakukan uji normalitas data melalui uji *Shapiro Wilk* (jumlah sampel kurang dari 50) dan uji homogenitas melalui uji *Levene*. Apabila hasil uji menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan seragam ($p > 0,05$), maka uji analisis dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* untuk melihat adanya perbedaan bermakna pada minimal dua kelompok perlakuan ($p < 0,05$), sedangkan data dengan hasil uji yang menunjukkan sebaran data tidak terdistribusi normal ditransformasi terlebih dahulu dan dilanjutkan dengan uji normalitas dan homogenitas. Data yang tidak terdistribusi normal dan tidak seragam ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*. Apabila hasil uji *One Way Anova* signifikan ($p < 0,05$), maka analisis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk mencari kelompok perlakuan mana yang berbeda secara bermakna.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Tepung kedelai memiliki aktivitas hepatoprotektor terhadap pencegahan peningkatan kadar SGOT tikus wistar yang diinduksi diazinon.
2. Tepung kedelai memiliki aktivitas hepatoprotektor terhadap pencegahan peningkatan kadar SGPT tikus wistar yang diinduksi diazinon.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan oleh peneliti dari penelitian ini ialah sebagai berikut.

1. Perlu dilakukan pemeriksaan biomarker penanda hepatotoksisitas lain untuk mengkonfirmasi aktivitas hepatoprotektor tepung kedelai.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan induksi diazinon pada fase kronik untuk mengevaluasi efek proteksi tepung kedelai terhadap hepatotoksisitas diazinon.
3. Perlu adanya pengontrolan terhadap lingkungan pemeliharaan dan perlakuan hewan coba dalam penelitian yang dapat mempengaruhi pola metabolisme dan enzimatis hewan coba.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, S. M., M. V. Aksenova, M. Y. Aksenov, C. F. Mactutus, dan R. M. Booze. 2012. Soy isoflavones genistein and daidzein exert anti-apoptotic actions via a selective er-mediated mechanism in neurons following hiv-1 tat1-86 exposure. *PLoS ONE*. 7(5):38–40.
- Adiandri, R. S., N. Hidayah, dan E. Rahayu. 2014. Efek pengolahan terhadap kandungan oligosakarida dan sifat fisikokimia tepung kedelai dan kacang hijau. *Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Pascapanen Pertanian*. 940–949.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2008. *Toxicological Profile for Diazinon*.
- Al-Ashaal, H. A., M. A. Fahmy, F. R. Melek, N. H. Aly, dan Z. M. Hasan. 2012. Effect of supplemented soybean (glycine max l) diet and extracts on aluminum sulfate-induced genotoxicity. *Toxicological and Environmental Chemistry*. 94(5):965–986.
- Al-Attar, A. M. 2015. Effect of grapeseed oil on diazinon-induced physiological and histopathological alterations in rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 22(3):284–292.
- Amine, A., H. Mohammadi, I. Bourais, dan G. Palleschi. 2006. Enzyme inhibition-based biosensors for food safety and environmental monitoring. 21:1405–1423.
- Ardiwinata, A. N. dan D. Nursyamsi. 2012. Residu pestisida di sentra produksi padi di jawa tengah. *Balai Penelitian Lingkungan Pertanian*. 21(1):39–58.
- Aribowo, F. P., A. Dewi, P. Sujoso, dan R. I. Hartanti. 2016. Faktor yang berhubungan dengan gejala keracunan akut pestisida organofosfat pada petani jeruk (studi di desa umbulsari kecamatan umbulsari kabupaten jember).
- Astuti, S. 2008. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. *Jurnal Teknologi Industri Dan Hasil Pertanian*. 13(2):126–136.
- Azis, T. 2011. Analisis residu pestisida diazinon dalam tanaman kubis (brassica oleracea) menggunakan biosensor elektrokimia secara voltametri siklik. *Progres Kimia Sains*. 1(1):32–40.
- Badan Standarisasi Nasional (BSN). 2008. Batas maksimum residu pestisida pada hasil pertanian. 7313(2008):1–147.

- Bhagwat, S., D. B. Haytowitz, dan J. M. Holden. 2008. USDA Database for the Isoflavone Content of Selected Foods, Release 2.0. *U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory*. 1–156.
- Boehm, O., B. Zur, A. Koch, N. Tran, R. Freyenhagen, M. Hartmann, dan K. Zacharowski. 2007. Clinical Chemistry Reference Database for Wistar Rats and C57/BL6 Mice. *Biol Chem*. 388: 547-554.
- Bonilla, E., F. Herna, L. Corte, M. Mendoza, J. Meji, E. Carrillo, E. Casas, dan M. Betancourt. 2008. Effects of the insecticides malathion and diazinon on the early oogenesis in mice in vitro. 240–245.
- Budyono. 2012. Kajian Sistematis Dampak Pestisida Diazinon terhadap Manusia, Mamalia Lainnya, dan Lingkungan. *Skripsi*. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia.
- Cahyani, R. D., L. K. Nuswantara, dan A. Subrata. 2012. Pengaruh proteksi protein tepung kedelai dengan tanin daun bakau terhadap konsentrasi amonia, undegraded protein dan protein total secara in vitro. 1(1):159–166.
- Ceriotti, F., J. Henny, S. Ziyu, J. C. Boyd, dan M. Panteghini. 2010. Common reference intervals for aspartate aminotransferase (ast), alanine aminotransferase (alt) and g -glutamyl transferase (ggt) in serum: results from an ifcc multicenter study. 48(11):1593–1601.
- Chiang, J. Y. L. 2013. Bile acid metabolism and signaling. 3(July):1191–1212.
- Colovic, M. B., D. Z. Krstic, T. D. Lazarevic-Pasti, A. M. Bondzic, dan V. M. Vasic. 2013. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Current Neuropharmacology*. 11(3):315–335.
- Conigrave, K. M., P. Davies, P. Haber, dan J. B. Whitfield. 2003. Traditional markers of excessive alcohol use. 98:31–43.
- Coward, L., M. Smith, M. Kirk, dan S. Barnes. 1998. Chemical modification of isoflavones in soyfoods during cooking. *American Society for Clinical Nutrition*. 68(March):1486–1491.
- Cox, C. 2000. Diazinon: toxicology. *Journal of Pesticide Reform/Summer*. 20(2):15–21.
- Dakhoul, L., M. Ghabril, dan N. Chalasani. 2018. Drug-induce Chronic Liver Injury. *Journal of Hepatology*. 69(1): 248-250.
- Damalas, C. A. 2009. Understanding benefits and risks of pesticide use. *Scientific*

Research and Essay. 4(10):945–949.

Desai, V. G., L. E. Lyn-Cook, A. Aidoo, D. A. Casciano, dan R. J. Feuers. 1997. Modulation of antioxidant enzymes in bleomycin-treated rats by vitamin c and β -carotene.pdf. *Nutrition and Cancer*.

Engelking, L. R. 2011. *Textbook of Veterinary Updated Second Edition*.

Foti, P., D. Erba, P. Riso, A. Spadafranca, F. Criscuoli, dan G. Testolin. 2005. Comparison between daidzein and genistein antioxidant activity in primary and cancer lymphocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 433(2):421–427.

Fukuda, S., S. Tsuchikura, dan H. Iida. 2004. Age-Related in Blood Pressure, Hematological Values, Concentrations of Serum Biochemical Constituents and Weight of Organs in the *SHR/Izm*, *SHRSP/Izm* and *WKY/Izm*. *Experimental Animals*. 53(1): 67-72.

Galli, F., R. Rossi, P. Di Simplicio, A. Floridi, dan F. Canestrari. 2002. Protein thiols and glutathione influence the nitric oxide-dependent regulation of the red blood cell metabolism. *Nitric Oxide - Biology and Chemistry*. 6(2):186–199.

Giannini, E. G., R. Testa, dan V. Savarino. 2005. Liver Enzyme Alteration: A Guide for Clinicians. *Canadian Medical Association Journal*. 172(3): 367-379.

Gokcimen, A., K. Gulle, H. Demirin, D. Bayram, A. Kocak, dan I. Altuntas. 2007. Effects of diazinon at different doses on rat liver and pancreas tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 87(2):103–108.

Gomez-zorita, S., A. Fernandez-Quintela, M. T. Macarulla, L. Aguirre, E. Hijona, L. Bujanda, F. Milagro, J. A. Martinez, dan M. P. Portillo. 2012. Resveratrol attenuates steatosis in obese zucker rats by decreasing fatty acid availability and reducing oxidative stress. *British Journal of Nutrition*. 107:202–210.

Gozalli, M. 2015. Karakteristik Tepung Kedelai Dari Jenis Impor Dan Lokal (Varietas Anjasmoro Dan Baluran) Dengan Perlakuan Perebusan Dan Tanpa Perebusan.

Hall, J. E. 2011. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology Twelfth Edition*. Saunders Elsevier.

Hamzah, F. 2014. Pengaruh Konsentrasi *Lactobacillus Acidophilus* Dan Tepung Sagu Terhadap Umur Simpan Dan Sifat Sensori Tempe Kedelai.

- Hariadi, H., S. Effendi, dan N. S. Achyadi. 2012. Aplikasi Program Linear Dalam Pembuatan Formulasi Cookies Dari Tepung Komposit (Jagung, Kacang Kedelai Dan Bonggol Pisang Batu). 2012.
- Harsanti, E. S., S. Y. Jatmiko, A. N. Ardiwinata, dan J. Soejitno. 2003. Residu insektisida pada kedelai dan tanah sawah vertisol bojonegoro. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 22(1):6–13.
- Harsojo dan S. M. Chairul. 2011. Kandungan mikroba patogen, residu insektisida organofosfat dan logam berat dalam sayuran. *Ecolab*. (021):89–95.
- Herlianto, B., S. Mustika, Supriono, B. Pratomo, H. Achmad. 2014. Role of Phytopharmacy as Hepatoprotector in Chronic Hepatitis. *The Indonesian Journal of Gastroenterology, Hepatology and Digestive Endoscopy*. 15(3): 157-160.
- Hudayya, A dan Jayanti. 2012. *Pengelompokan Pestisida Berdasarkan Cara Kerjanya (Mode of Action)*.
- Ihedioha, J. I., J. I. Ugwuja, O. A. Noel-Uneke, I. J. Udeani, dan G. Daniel-Igwe. 2012. Reference Values for The Haematology Profile of Conventional Grade Outbred Albino Mice (*Mus musculus*) in Nsukka, Eastern Nigeria. *Animal Research International*. 9(2): 1601-1612.
- Irawan, B. dan E. Ariningsih. 2015. Dinamika penerapan teknologi pertanian pada tipe desa berbasis padi sawah, palawija, dan sayuran. *Dinamika Produksi Dan Penerapan Teknologi Pertanian*. 129–152.
- Islam, S., L. Antonsson, J. Westin, dan M. Lagging. 2005. Cirrhosis in Hepatitis C Virus-Infected Patients can be Excluded Using in Index of Standard Biochemical Serum Markers. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 40(7): 867-872.
- Isnawati, A. dan D. Mutiatikum. 2005. Penetapan kadar residu organoklorin dan taksiran resiko kesehatan masyarakat terhadap residu pestisida organoklorin pada 10 komoditi pangan. *Media Litbang Kesehatan*. 15(2):32–52.
- Isselbacher, K. J., E. Braunwald, J. D. Wilson, J. B. Martin, A. S. Fauci, dan D. L. Kasper. 2015. *Harrison Prinsip-prinsip Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Johnston, D. E. 1999. *Special Considerations in Interpreting Liver Function Test*.
- Kalender, S., A. Ogutcu, M. Uzunhisarcikli, F. Açikgoz, D. Durak, Y. Ulusoy, dan Y. Kalender. 2005. Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin e on some biochemical indices and ultrastructural changes.

Toxicology. 211(3):197–206.

Kandlakunta, B., A. Rajendran, dan L. Thingnganing. 2008. Carotene content of some common (cereals, pulses, vegetables, spices and condiments) and unconventional sources of plant origin. *Food Chemistry*. 106(1):85–89.

Khan, M. A., Jehanzeb, Shafiullah, S. A. Malik, M. Shafi. 2011. Hepatoprotective Effects of *Berberis lycium*, *Galium aparine* and *Pistacia integerrima* in Carbon Tetrachloride (CCL₄)-Treated Rats. *Journal of Postgraduate Medical Institute*. 22(2): 91-94.

Khan, T. H. 2012. Soy diet diminish oxidative injure and early promotional events induced by ccl₄ in rat liver. *International Journal of Pharmacology*. 8(1):30–38.

Kim, W. R., S. L. Flamm, A. M. Di Bisceglie, dan H. C. Bodenheimer. 2008. SPECIAL article serum activity of alanine aminotransferase (alt) as an indicator of health and disease. 1363–1370.

Koswara, S. 2009. *Teknologi Pengolahan Kedelai (Teori dan Praktek)*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.

Kretschmann, A., R. Ashauer, J. Hollender, dan B. I. Escher. 2012. TOXICOKINETIC and toxicodynamic model for diazinon toxicity — mechanistic explanation of differences in the sensitivity of *daphnia magna* and *gammarus pulex*.

Krinke, G. J. 2000. *The Laboratory Rat*. Elsevier.

Kusbandari, A. dan H. Susanti. 2017. KANDUNGAN beta karoten dan aktivitas penangkapan radikal bebas terhadap dp_{ph} (1,1-difenil 2-pikrihidrazil) ekstrak buah blewah (cucumis melo var. cantalupensis l) secara spektrofotometri uv-visibel. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*. 14(1):37–42.

Kusharyanti, I., N. Umilia, I. Fajriaty. 2012. Uji Aktivitas Hepatoprotektor Ekstrak Metanol Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds) pada Tikus Wistar Jantan Terinduksi Cisplatin. *Laporan Penelitian*.

Kwo, P. Y., S. M. Cohen, dan J. K. Lim. 2016. ACG practice guideline : evaluation of abnormal liver chemistries. (February):1–18.

Lari, P., K. Abnous, M. Imenshahidi, M. Rashedinia, M. Razavi, dan H. Hosseinzadeh. 2013. Evaluation of diazinon-induced hepatotoxicity and protective effects of crocin. *Toxicology and Industrial Health*. 1–10.

- Lee, D-H., M-W. Ha, dan D. C. Christiani. 2001. Body Weight, Alcohol Consumption and Liver Enzyme Activity--a 4-year follow-up study. *International Journal of Epidemiology*. 30(4): 766-770.
- Lee, J., N. Koo, dan D. B. Min. 2004. Species , aging , and antioxidative nutraceuticals. 3(Halliwell 1997):21–33.
- Lukaszewicz-Hussain, A. 2010. Role of oxidative stress in organophosphate insecticide toxicity - short review. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 98(2):145–150.
- Martin-Reina, J., J. A. Duarte, L. Cerrillos, J. D. Bautista, dan I. Moreno. 2017. Insecticide reproductive toxicity profile : organophosphate , carbamate and pyrethroids. *Toxins*. 4(1):1–7.
- Medic, J., C. Atkinson, dan C. R. Hurburgh. 2014. Current knowledge in soybean composition. *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*. 91(3):363–384.
- Menteri Kesehatan dan Menteri Pertanian. 1996. *Keputusan Bersama Batas Maksimum Residu Pestisida Pada Hasil Pertanian*.
- Mescher, A. L. 2012. *Histologi Dasar Junqueira Teks & Atlas*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Moshiri, M., M. Vahabzadeh, L. Etemad, dan H. Hosseinzadeh. 2013. Failure of Intravenous Lipid Emulsion to Reduce Diazinon-Induced Acute Toxicity: A Pilot Study in Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 12(4): 897-902.
- Murray, R. K., D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly, V. W. Rodwell, P.A. Weil, 2012. *Biokimia Harper Edisi 29*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. ISBN: 978-0-07-176576-3.
- Ngabekti, S. dan W. Isnaeni. 2000. Pemanfaatan kurkumin untuk mengeliminir pengaruh diazinon terhadap kerusakan hati mencit. *Manusia Dan Lingkungan*. 7(1):24–34.
- Nugraha, A. S., N. Sri, R. Sri, dan U. Siwi. 2008. Efek hepatoprotektif ekstrak buah merah (pandanus conoideus lam .) pada hati mencit jantan galur swiss induksi dengan ccl 4. *Jurnal Natur Indonesia*. 11(1):24–30.
- Nyblom, H., E. Bjornsson, M. Simren, F. Aldenborg, S. Almer, dan R. Olsson. 2006. The AST/ALT Ratio as an Indicator of Cirrhosis in Patients with PBC. *Liver International*. 26(7): 840-845.

- Okafor, H. K. dan O. A. T. Ebuehi. 2016. Defatted soy flour supplementation of wheat bread ameliorates blood chemistry and oxidative stress in wistar rats. *International Journal of Biochemistry Research & Review*. 10(1):1–14.
- Ozer, J., M. Ratner, M. Shaw, W. Bailey, dan S. Schomaker. 2008. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*. 245(3):194–205.
- Poet, T. S., A. A. Kousba, S. L. Dennison, dan C. Timchalk. 2004. Physiologically based pharmacokinetic/pharmacodynamic model for the organophosphorus pesticide diazinon. *NeuroToxicology*. 25(6):1013–1030.
- Poet, T. S., H. Wu, A. A. Kousba, dan C. Timchalk. 2003. In vitro rat hepatic and intestinal metabolism of the organophosphate pesticides chlorpyrifos and diazinon. 200:193–200.
- Prijanto, T. B., Nurjazuli, dan Sulistyani. 2009. Analisis faktor risiko keracunan pestisida organofosfat pada keluarga petani hortikultura di kecamatan ngablak kabupaten magelang. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*. 8(2):73–78.
- River, C. 2008. Clinical Laboratory Parameters for Crl:WI(Han). *Charles River Laboratory*.
- Rusdita, A. Q. W. 2016. Hubungan Higiene Perorangan Dan Cara Penyemprotan Pestisida Dengan Tingkat Keracunan Pestisida Pada Petani Di Desa Kembang Kuning Kecamatan Cepogo. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rustia, H. N., B. Wispriyono, D. Susanna, F. N. Luthfiah, B. K. Sosial, P. Pengkajian, dan P. Data. 2010. Lama pajanan organofosfat terhadap aktivitas enzim kolinesterase dalam darah petani sayuran. 14(2):95–101.
- Saleem, T. S. M., C. M. Chetty, S. Ramkanth, V. S. T. Rajan, K. M. Kumar, K. Gauthaman. 2010. Hepatoprotective Herbs-A Review. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 1(1): 1-5.
- Sarada, S. K. S., P. Dipti, B. Anju, T. Pauline, A. K. Kain, M. Sairam, S. K. Sharma, G. Ilavazhagan, D. Kumar, dan W. Selvamurthy. 2002. Antioxidant effect of beta-carotene on hypoxia induced oxidative stress in male albino rats. 79:149–153.
- Sarhan, O. dan Z. Y. Al-Sahhaf. 2016. Ultrastructural studies on the tongue of some egyptian lizards 1-scincine lizards chalcides ocellatus and chalcides sepsoides (lacertilia, scincidae). *Life Science Journal*. 8(4)
- Schumann, G., R. Bonora, G. Féraud, C. A. Ferrero, P. F. H. Franck, F. Gella, W.

- Hoelzel, P. J. Jørgensen, T. Kanno, R. Klauke, N. Kristiansen, H. Misaki, M. Panteghini, dan J. Pauwels. 2002. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 ° c. *40(7):725–733*.
- Sener, G., S. Arbak, P. Kurtaran, N. Gedik, dan B. C. Yegen. 2005. Estrogen Protects the Liver and Intestines Against Sepsis-Induced Injury in Rats. *Journal of Surgical Research*. 128: 70-78.
- Sentra Informasi Keracunan Nasional. 2016. *Grafik Kasus Keracunan Nasional Tahun 2016 Berdasarkan Kelompok Penyebab*
- Setiati, S., I. Alwi, A. W. Sudoyo, M. Simadibrata K, B. Setiyohadi, dan A. F. Syam. 2014. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Universitas Indonesia Jilid I*. Jakarta: Balai Penerbit FK-UI.
- Shenoy, K. A., S. N. Somayaji, K. L. Bairy. 2001. Hepatoprotective Effects of *Ginkgo biloba* Against Carbon Tetrachloride Induced Hepatic Injury in Rats. *Indian Journal of Pharmacology*. 33: 260-266.
- Shokrzadeh, M., S. Shobi, H. Attar, S. Shayegan, S. S. H. Payam, dan F. Ghorbani. 2012. Effect of Vitamin A, E, and C on Liver Enzyme Activity in Rats Exposed to Organophosphate Pesticide Diazinon. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 15(19): 936-941.
- Sihombing, M. dan S. Tuminah. 2011. Perubahan Nilai Hematologi, Biokimia Darah, Bobot Organ dan Bobot Badan Tikus Putih pada Umur Berbeda. *Jurnal Veteriner*. 12(1):58-64.
- Smith, T. A. D. 1998. Carotenoid and cancer: prevention and potential therapy. *British Journal of Biomedical Science*. 55:268–275.
- Snell, R. S. 2012. *Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem*. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Song, L., L. Ma, F. Cong, X. Shen, P. Jing, X. Ying, H. Zhou, J. Jiang, Y. Fu, dan H. Yan. 2015. Radioprotective effects of genistein on hl-7702 cells via the inhibition of apoptosis and dna damage. *Cancer Letters*
- Soyfoods Association of North America. 2005. Whole Soy Bean. 2005
- Sugiyono. 2011. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan R&D*. Bandung: Afabeta.
- Suhardjono D. 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal. 207

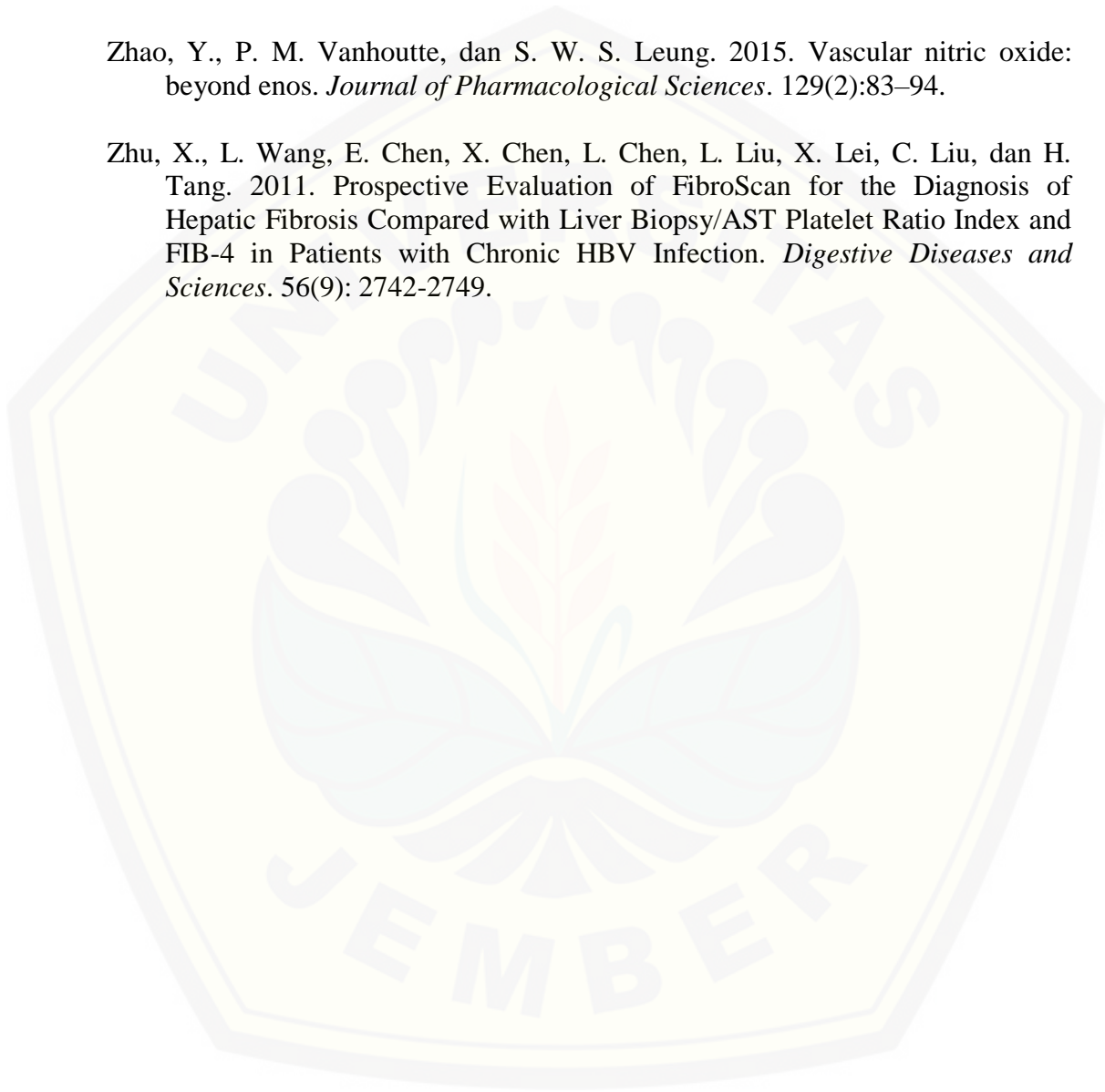
- Sulaiman, A., N. Akbar, L. A. Lesmana, dan M. Sjaifoellah Noer. 2012. Buku Ajar Ilmu Penyakit Hati. Jakarta: Sagung Seto.
- Sumardjo, D. 2008. Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Terry, A. V. 2012. Functional consequences of repeated organophosphate exposure: potential non-cholinergic mechanisms. *Pharmacology and Therapeutics*. 134(3):355–365.
- Tuhumury, G. N. C., J. A. Leatemia, dan R. Y. R. J. V Hasinu. 2012. Residu pestisida produk sayuran segar di kota ambon. *Agrologia*. 1(2):99–105.
- Ugbor, C. I., G. R. A. Okogun, L. O. Okonkwo, B. E. Asogwa, J. O. Ebo, G. N. Maduagwuna, dan S. N. Ekoh. 2013. The Effect of Tobacco Snuff Consumption on Liver Enzymes. *International Journal of Herbs and Pharmacological Research*. 2(2): 20-27.
- United States Department of Agriculture. 2015. USDA database for the isoflavone content of selected foods. *U.S. Department of Agriculture*. 1–156.
- Uzzi, H. O. dan D. B. Grillo. The Hepato-Protective Potentials of Aqueous Leaf Extract of *Cassia occidentalis* Against Paracetamol Induced Hepatotoxicity in Adult Wistar Rats. *International Journal of Herbs and Pharmacological Research*. 2(2): 6-13.
- Wagner, M. 2016a. GPT (alt) modified ifcc. 43(0):1–2.
- Wagner, M. 2016b. GOT (ast) modified ifcc. (0)
- Warisno dan K. Dahana. 2010. *Meraup Untung dari Olahan Kedelai*. Jakarta: PT Agro Media Pustaka.
- WHO. 2001. Pesticide Poisoning Database in SEAR Countries. 2001. 22–24.
- Widowati, S. 2016. Teknologi pengolahan kedelai. *Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Pascapanen Pertanian*
- Wilson, B. W. 2001. Cholinesterases. In: Handbook of Pesticide Toxicology. 2: Agents, ed. R. Krieger. 967–981. New York, NY: Academic Press.
- Wu, H., C. Evreux-Gros, dan J. Descotes. 1996. Influence of cimetidine on the toxicity and toxicokinetics of diazinon in the rat. *Human & Experimental*

Toxicology. 15:391–395.

Wulandari, T. 2006. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness.) Terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar Dan Kadar Glutamat Piruvat Transaminase Serum Mencit (*Mus Musculus L.*) Yang Terpapar Diazinon. Universitas Sebelas Maret.

Zhao, Y., P. M. Vanhoutte, dan S. W. S. Leung. 2015. Vascular nitric oxide: beyond enos. *Journal of Pharmacological Sciences*. 129(2):83–94.

Zhu, X., L. Wang, E. Chen, X. Chen, L. Chen, L. Liu, X. Lei, C. Liu, dan H. Tang. 2011. Prospective Evaluation of FibroScan for the Diagnosis of Hepatic Fibrosis Compared with Liver Biopsy/AST Platelet Ratio Index and FIB-4 in Patients with Chronic HBV Infection. *Digestive Diseases and Sciences*. 56(9): 2742-2749.



Lampiran 3.1 Surat Keterangan Persetujuan Etik

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS JEMBER

KOMISI ETIK PENELITIAN

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember
68121 – Email : fk_unej@telkom.net**KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK***ETHICAL APPROVA*

Nomor : 1295/H25.1.11/KE/2019

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

AKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR TEPUNG KEDELAI (*Glycine max (L.) Merr.*) TERHADAP KADAR SGOT DAN SGPT TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI DIAZINON

Nama Peneliti Utama : Toyibatul Hidayati
Name of the principal investigator

NIM : 1520101011135

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 4 Juli 2019

Ketua Komisi Etik Penelitian



Dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

Review Proposal :

Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan memperhatikan :

- Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan (Penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R : *Replacement, Reduce, Refinement*)
- Peneliti harus memiliki kemampuan penanganan dan pemeliharaan hewan coba.
- Penggunaan hewan coba sehat/sakit harus memenuhi azas penelitian yang beradab : kejujuran, tidak merugikan, kemanfaatan dan respek terhadap lingkungan.
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.


Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK



Jember, 17 Juni 2019
Reviewer



dr. Kristianningrum Dian Sofiana, M.Biomed

Jember, 10 Juni 2019

Tanggapan Anggota Komisi Etik untuk protokol penelitian:

Nama : Toyibatul Hidayati
NIM : 1520101011135
Judul : Aktivitas Hepatoprotektor Tepung Kedelai Terhadap Kadar SGOT
Dan SGPT Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Diazinon

Komentar Reviewer Etik:

Berdasarkan pertimbangan 3 prinsip etika, 7 standar, dan 25 butir pedoman etik penelitian pada manusia oleh CIOMS-WHO. Maka pertimbangan etik untuk penelitian dengan judul tersebut diatas adalah:

1. Peneliti harap memperhatikan keamanan saat melakukan penelitian hewan coba terhadap diri dan pembantu peneliti, sebaiknya dijelaskan penggunaan alat pelindung diri (APD) saat melakukan penelitian.
2. Pemusnahan hewan coba sebaiknya diberikan anestesi sebelum dibunuh, agar tidak merasakan kesakitan.
3. Harap diperhatikan keamanan terhadap lingkungan saat pemusnahan setelah hewan coba selesai menjadi subjek penelitian.

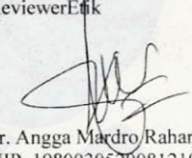
Kesimpulan: Penelitian dapat dilanjutkan dengan syarat mematuhi pertimbangan etik tersebut diatas.

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Reviewer Etik



dr. Angga Mardro Raharjo, Sp.P
NIP. 198003052008121002

Lampiran 3.2 Surat Rekomendasi KOMBI

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN
Jl. Kalimantan 1/37 Kampus Tegal Boto. Telp. (0331) 337877, Fax (0331) 324446
Jember 68121.

REKOMENDASI BEBAS PLAGIASI

Nomor : 111 /H25.1.11/KBSI/2019

Komisi bimbingan Skripsi dan Ilmiah, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya peningkatan kualitas dan originalitas karya tulis ilmiah mahasiswa berupa skripsi, telah melakukan pemeriksaan plagiasi atas skripsi yang berjudul :

**AKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR TEPUNG KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr)
TERHADAP KADAR SGOT DAN SGPT TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI
DIAZINON**

Nama Penulis : Toyibatul Hidayati
NIM. : 152010101135
Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Telah menyetujui dan dinyatakan "**BEBAS PLAGIASI**"

Surat Rekomendasi ini dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 12 Agustus 2019
Komisi Bimbingan Skripsi & Ilmiah
Ketua,



Dr., dr. Yunita Armiyanti, M.Kes
NIP. 19740604 200112 2 002

Lampiran 3.3 Determinasi Tanaman Kedelai

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
Jl. Kalimantan Kampus Tegalboto, Jember 68121;
Telp.: (0331) 334054, Fax.: (0331) 338422, e-mail: soedradjad_faperta@unej.ac.id
www.unej.ac.id

Nomor : 053/UN25.1.3/BP/PS.8/2017
Lampiran : 2 (lembar) lembar
Hal : Hasil Identifikasi Tumbuhan

18 September 2017

Yth. : **Pembantu DEKAN I**
Fakultas Kedokteran
Universitas Jember

Menindaklanjuti surat saudara Nomor: 1549/UN25.1.11/LT/2017, tanggal 4 September 2017 tentang Permohonan Ijin Penelitian untuk identifikasi tanaman, maka bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi morfologis 1 (satu) set contoh tanaman lengkap yang terdiri dari daun, batang, akar, dan buah beserta isinya (terlampir) dalam rangka penyusunan skripsi, atas nama:

Nama : Sofi Aliyatul Himah
NIM : 142010101037

Atas kepercayaannya disampaikan terimakasih.

Ketua



Ir. R. Soedradjad, M.T.
NIP. 195707181984031001

Tembusan:

1. Dekan Fakultas Pertanian UNEJ (sebagai Laporan)
2. Mahasiswa yang bersangkutan


HASIL IDENTIFIKASI MORFOLOGIS CONTOH TUMBUHAN

1.	MORFOLOGI DAUN	
a.	Bangun Daun	Lanset (<i>lanceolatus</i>)
b.	Tepi Daun	Rata (<i>integer</i>)
c.	Pangkal Daun	tumpul (<i>obtusus</i>)
d.	Ujung Daun	Meruncing (<i>acuminatus</i>)
e.	Tulang Daun	Menyirip (<i>Penninervis</i>)
f.	Warna Ibu Tulang Daun	Hijau
g.	Permukaan Atas	Berbulu halus (<i>Villosus</i>)
h.	Permukaan Bawah	Berbulu halus (<i>Villosus</i>)
i.	Warna Daun	Hijau Tua (bagian atas) dan Hijau Muda (bagian bawah)
j.	Duduk Daun	Berhadapan (<i>folia opposita</i>)
k.	Rumus Daun	-
l.	Jenis Daun	Majemuk bertangkai tiga (<i>trifoliate leaves</i>)
2.	MORFOLOGI BATANG	
a.	Bentuk Batang	Bulat
b.	Tipe Pertumbuhan Batang	Terbatas (<i>determinate</i>)
c.	Permukaan Batang	Berbulu Halus
d.	Arah Tumbuh	Ke atas
e.	Percabangan	5 – 6 cabang
3.	MORFOLOGI AKAR	
	Sistem perakaran	Tunggang dan bercabang
4.	MORFOLOGI BUNGA	Tanaman sudah berbuah (polong)
5.	MORFOLOGI BUAH	Berbentuk polong berwarna hijau dan berbulu
6.	MORFOLOGI BIJI	Berbentuk bulat telur berwarna hijau
7.	MODIFIKASI ORGAN	
a.	Jenis Modifikasi	Tidak ada
b.	Lain-Lain	Tidak ada

Catatan:

1. Tumbuhan yang diidentifikasi berupa tanaman lengkap dan sudah membentuk polong.
2. Berdasar ciri morfologis, khususnya pada karakter akar, batang, daun, dan bunga dapat disimpulkan bahwa tumbuhan adalah Kedelai (*Glycine max L. Merr*) var Lokal/Baluran.

Jember, 18 September 2017
Pelaksana Identifikasi
PLP Laboratorium Agronomi,

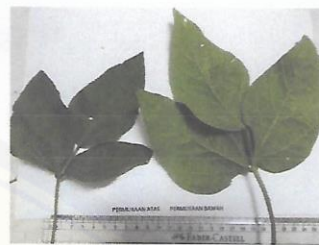


Muhammad Sugiono
NIP. 196712182001121001

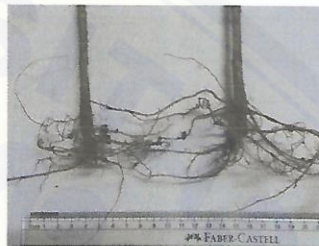
Tanaman yang di Identifikasi



Tanaman Lengkap



Daun Tanaman

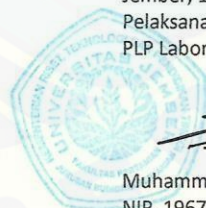



Batang & Akar



Polong (buah) dan Biji

Jember, 18 September 2017
Pelaksana Identifikasi
PLP Laboratorium Agronomi,




Muhammad Sugiono
NIP. 196712182001121001

Lampiran 3.4 Pembuatan Tepung Kedelai

Pengolahan kacang kedelai menjadi tepung dilakukan dengan tahapan sebagai berikut.

1. Kacang kedelai disortir untuk mendapatkan kacang kedelai yang baik.
2. Kacang kedelai direndam minimal selama 3 jam, setiap 200 gram kedelai direndam dalam 600 mL air bersih.
3. Air rendaman kacang kedelai diganti setiap 1-1,5 jam.
4. Kacang kedelai yang telah direndam ditiriskan.
5. Kacang kedelai direbus selama 5 menit.
6. Hasil perebusan kacang kedelai dikeringkan menggunakan panas matahari selama 4 jam dan diovenkan pada suhu 50°C selama 24 jam.
7. Kedelai yang kering digiling dan diayak dengan ayakan 80 mesh dengan pengulangan dua kali.

Lampiran 3.5 Daftar Volume Maksimal Larutan Sediaan yang Dapat Diberikan pada Hewan Coba

Jenis Hewan Uji	Volume Maksimal (mL) sesuai Jalur Pemberian				
	i.v.	i.m.	i.p.	s.c.	p.o.
Mencit (20-30 gr)	0,5	0,5	1,0	0,5-10	1,0
Tikus (100 gr)	1,0	0,1	2-5	2-5	5,0
Hamster (50 gr)	-	0,1	1-2	2,5	2,5
Marmot (250 gr)	-	0,25	2-5	5,0	10,0
Merpati (300 gr)	2,0	0,5	2,0	2,0	10,0
Kelinci (2,5 kg)	5-10	0,5	10-20	5-10	20,0
Kucing (3 kg)	5-10	1,0	10-20	5-10	50,0
Anjing (5 kg)	10-20	5,0	20-50	10,0	100,0

Sumber: Suhardjono, 1995

Keterangan:

- i.v. : intravena
- i.m. : intramuscular
- i.p. : intraperitoneal
- s.c. : subcutan
- p.o. : peroral

Lampiran 3.6 Pengenceran Diazinon

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\V_1 \times 40 \text{ mg/mL} &= 1 \text{ mL} \times 600 \text{ mg/mL} \\V_1 &= 15 \text{ mL}\end{aligned}$$

Keterangan:

V1 : volume *corn oil* yang dibutuhkan dalam campuran

M1 : konsentrasi diazinon yang akan diinduksi kepada hewan coba

V2 : volume larutan diazinon yang akan dicampurkan dengan *corn oil*

M2 : konsentrasi diazinon sebelum pengenceran

Dosis diazinon yang akan diinduksi kepada hewan coba adalah sebesar 40 mg/kgBB. Sediaan diazinon dengan konsentrasi 600 mg/mL harus diencerkan menggunakan *corn oil* yang merupakan *vehicle* sediaan tersebut. Sebanyak 1 mL diazinon dicampurkan dengan 15 mL *corn oil*. Campuran tersebut selanjutnya diberikan kepada tikus dengan jumlah yang berbeda-beda bergantung pada berat badan tikus wistar.

Lampiran 3.7 Tabel Dosis Diazinon

Kelompok	Nomor Perlakuan	Berat Badan (gram)	Dosis Diazinon 40 mg/kgBB	Volume yang Disondekan dalam <i>Corn Oil</i> (mL)
K(-)	1	247	9,88	0,24
	2	232	9,28	0,23
	3	206	8,24	0,21
	4	203	8,12	0,20
	5	300	12,00	0,3
K1	1	194	7,76	0,19
	2	226	9,04	0,22
	3	258	10,3	0,25
	4	211	8,44	0,21
	5	221	8,84	0,22
K2	1	214	8,56	0,21
	2	232	9,28	0,22
	3	262	10,48	0,26
	4	160	6,40	0,16
	5	154	6,16	0,15
K3	1	238	9,52	0,23
	2	215	8,60	0,21
	3	202	8,08	0,20
	4	228	9,12	0,23
	5	175	7,00	0,17

Lampiran 3.8 Terminasi Hewan Coba

1. Tabung toples yang berisi kapas disiapkan dengan penutupnya.
2. Dietil eter sebagai cairan anestesi diteteskan ke dalam tabung hingga terserap pada kapas dalam tabung toples tersebut.
3. Tikus dimasukkan dalam tabung dan ditutup. Tikus akan menunjukkan gejala lemah dan penurunan kesadaran.
4. Tikus yang telah menunjukkan penurunan kesadaran dikeluarkan dari dalam tabung.
5. Lakukan prosedur dislokasi pada bagian leher tikus dengan menekan bagian kepala ke arah bawah depan.
6. Tikus difiksasi dengan jarum pins pada papan fiksasi.
7. Tikus dibedah menggunakan gunting bengkok mulai dari bagian abdomen ke arah toraks.
8. Spesimen darah tikus diambil dari jantung tikus secara intrakardiak menggunakan spuit 5 mL.
9. Darah dari masing-masing tikus disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan serum sebagai sampel pemeriksaan biokimiawi.
10. Supernatan hasil sentrifugasi dipindahkan ke *microtube* menggunakan *micropipet*
11. Hewan coba yang telah mati dikremasi (dibakar) dan dikubur menjadi satu pada kedalaman 50 cm.

Lampiran 3.9 Pemeriksaan SGOT

1. Spesimen darah yang telah diambil secara intrakardiak disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit.
2. Reagen 1 dan reagen 2 SGOT dipertahankan dalam suhu 37°C.
3. Reagen 1 SGOT sebanyak 1000 µl dicampurkan dengan 250 µl reagen 2 untuk mendapatkan reagen kerja. Larutan dihomogenisasi menggunakan vortex.
4. 1000 µl reagen kerja dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dicampurkan dengan 100 µl serum hasil sentrifugasi. Larutan dihomogenisasi menggunakan vortex.
5. Campuran dipindahkan ke tabung cuvet dan dibaca nilai absorbansinya menggunakan alat *bioanalyzer* yang telah diatur waktu inkubasinya selama 2 menit dan panjang gelombang 340 nm. Hasil pembacaan dari alat *bioanalyzer* berupa kadar SGOT dalam satuan µ/L.

Lampiran 3.10 Pemeriksaan SGPT

1. Spesimen darah yang telah diambil secara intrakardiak disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit.
2. Reagen 1 dan reagen 2 SGPT dipertahankan dalam suhu 37°C.
3. Reagen 1 SGPT sebanyak 1000 µl dicampurkan dengan 250 µl reagen 2 untuk mendapatkan reagen kerja. Larutan dihomogenisasi menggunakan vortex.
4. 1000 µl reagen kerja dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dicampurkan dengan 100 µl serum hasil sentrifugasi. Larutan dihomogenisasi menggunakan vortex.
5. Campuran dipindahkan ke tabung cuvet dan dibaca nilai absorbansinya menggunakan alat *bioanalyzer* yang telah diatur waktu inkubasinya selama 2 menit dan panjang gelombang 340 nm. Hasil pembacaan dari alat *bioanalyzer* berupa kadar SGPT dalam satuan µ/L.

Lampiran 4.1 Data Kadar SGOT

Kelompok Perlakuan	Hewan Coba	Kadar SGOT (U/L)	Rata-rata
Kn	1	75.864	81.7632
	2	88.296	
	3	79.584	
	4	79.68	
	5	85.392	
K(-)	1	123.552	126.274
	2	133.176	
	3	114.552	
	4	137.616	
	5	122.472	
K1	1	108.096	106.114
	2	101.256	
	3	112.896	
	4	107.64	
	5	100.68	
K2	1	86.664	92.2752
	2	94.728	
	3	98.448	
	4	91.992	
	5	89.544	
K3	1	78.984	82.8528
	2	81.912	
	3	81.816	
	4	85.08	
	5	86.472	

Lampiran 4.2 Hasil Uji Statistik Kadar SGOT**1) Uji Normalitas**

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_	Kn	.262	5	.200*	.937	5	.642
SGOT_	K(-)	.217	5	.200*	.956	5	.782
	K1	.228	5	.200*	.906	5	.443
	K2	.125	5	.200*	.992	5	.987
	K3	.225	5	.200*	.950	5	.736

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2) Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances				
Kadar_SGOT_				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	2.465	4	20	.078

3) Uji Beda One Way Anova

ANOVA					
Kadar_SGOT_					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6954.837	4	1738.709	52.784	.000
Within Groups	658.796	20	32.940		
Total	7613.633	24			

4) Uji Post Hoc LSD**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Kadar_SGOT_

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kn	K(-)	-44.51040*	3.62986	.000	-52.0822	-36.9386
	K1	-24.35040*	3.62986	.000	-31.9222	-16.7786
	K2	-10.51200*	3.62986	.009	-18.0838	-2.9402
	K3	-1.08960	3.62986	.767	-8.6614	6.4822
K(-)	Kn	44.51040*	3.62986	.000	36.9386	52.0822
	K1	20.16000*	3.62986	.000	12.5882	27.7318
	K2	33.99840*	3.62986	.000	26.4266	41.5702
	K3	43.42080*	3.62986	.000	35.8490	50.9926
K1	Kn	24.35040*	3.62986	.000	16.7786	31.9222
	K(-)	-20.16000*	3.62986	.000	-27.7318	-12.5882
	K2	13.83840*	3.62986	.001	6.2666	21.4102
	K3	23.26080*	3.62986	.000	15.6890	30.8326
K2	Kn	10.51200*	3.62986	.009	2.9402	18.0838
	K(-)	-33.99840*	3.62986	.000	-41.5702	-26.4266
	K1	-13.83840*	3.62986	.001	-21.4102	-6.2666
	K3	9.42240*	3.62986	.017	1.8506	16.9942
K3	Kn	1.08960	3.62986	.767	-6.4822	8.6614
	K(-)	-43.42080*	3.62986	.000	-50.9926	-35.8490
	K1	-23.26080*	3.62986	.000	-30.8326	-15.6890
	K2	-9.42240*	3.62986	.017	-16.9942	-1.8506

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 4.3 Data Kadar SGPT

Kelompok Perlakuan	Hewan Coba	Kadar SGPT (U/L)	Rata-rata
Kn	1	41,42	41,586
	2	41,79	
	3	43,05	
	4	39,11	
	5	42,56	
K(-)	1	58,05	55,4
	2	56,24	
	3	53,14	
	4	53,66	
	5	55,91	
K1	1	51,16	50,524
	2	52,04	
	3	49,02	
	4	52,95	
	5	47,45	
K2	1	45,42	45,716
	2	47,93	
	3	43,22	
	4	44,99	
	5	47,02	
K3	1	42,66	43,864
	2	41,53	
	3	46,52	
	4	45,43	
	5	43,18	

Lampiran 4.4 Hasil Uji Statistik Kadar SGPT**1) Uji Normalitas**

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_	Kn	.257	5	.200*	.901	5	.417
SGPT	K(-)	.207	5	.200*	.937	5	.642
	K1	.211	5	.200*	.947	5	.716
	K2	.164	5	.200*	.975	5	.905
	K3	.230	5	.200*	.941	5	.675

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2) Uji Homogenitas**Test of Homogeneity of Variances**

Kadar_SGPT			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.537	4	20	.710

3) Uji Beda One Way Anova**ANOVA**

Kadar_SGPT					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	614.498	4	153.624	40.410	.000
Within Groups	76.033	20	3.802		
Total	690.531	24			

4) Uji Post Hoc LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar_SGPT

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference			95% Confidence Interval	
		(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
Kn	K(-)	-13.81400*	1.23315	.000	-16.3863	-11.2417
	K1	-8.93800*	1.23315	.000	-11.5103	-6.3657
	K2	-4.13000*	1.23315	.003	-6.7023	-1.5577
	K3	-2.27800	1.23315	.080	-4.8503	.2943
K(-)	Kn	13.81400*	1.23315	.000	11.2417	16.3863
	K1	4.87600*	1.23315	.001	2.3037	7.4483
	K2	9.68400*	1.23315	.000	7.1117	12.2563
	K3	11.53600*	1.23315	.000	8.9637	14.1083
K1	Kn	8.93800*	1.23315	.000	6.3657	11.5103
	K(-)	-4.87600*	1.23315	.001	-7.4483	-2.3037
	K2	4.80800*	1.23315	.001	2.2357	7.3803
	K3	6.66000*	1.23315	.000	4.0877	9.2323
K2	Kn	4.13000*	1.23315	.003	1.5577	6.7023
	K(-)	-9.68400*	1.23315	.000	-12.2563	-7.1117
	K1	-4.80800*	1.23315	.001	-7.3803	-2.2357
	K3	1.85200	1.23315	.149	-.7203	4.4243
K3	Kn	2.27800	1.23315	.080	-.2943	4.8503
	K(-)	-11.53600*	1.23315	.000	-14.1083	-8.9637
	K1	-6.66000*	1.23315	.000	-9.2323	-4.0877
	K2	-1.85200	1.23315	.149	-4.4243	.7203

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 4.5 Dokumentasi Penelitian

1) Pembuatan tepung kedelai



a) Pengeringan kedelai menggunakan panas matahari selama 4 jam



b) Pemanasan kedelai menggunakan oven dalam suhu 50°C selama 24 jam



c) Pengayakan tepung kedelai

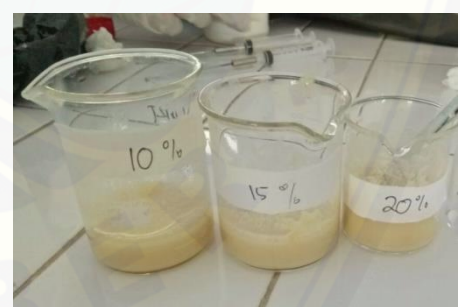


d) Sediaan tepung kedelai

2) Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba



a) Kandang hewan coba



b) Larutan tepung kedelai dengan akuades



c) Penyondean terhadap hewan coba



d) Diazinon yang digunakan dalam penelitian



e) Pelarut diazinon (*corn oil*) yang digunakan dalam penelitian

3) Terminasi hewan coba dan pengambilan data penelitian



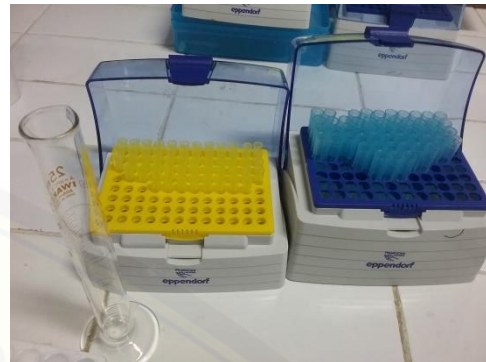
a) Pembedahan dan pengambilan sampel darah dari jantung tikus



b) Sentrifugasi sampel darah



c) Serum hasil sentrifugasi



d) Persiapan pemeriksaan SGOT dan SGPT



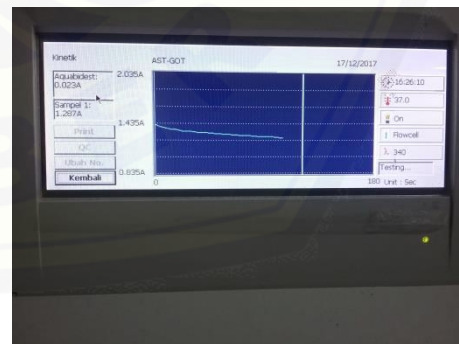
e) Reagen pemeriksaan SGOT



f) Reagen pemeriksaan SGPT



g) Pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT menggunakan *bioanalyzer*



h) Pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT menggunakan *bioanalyzer*