



**TEPUNG KEDELAI (*Glycine max*) SEBAGAI
HEPATOPROTEKTOR TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HATI TIKUS WISTAR JANTAN YANG
DIINDUKSI DIAZINON**

SKRIPSI

Oleh

**Verantika Indra Susetio
NIM 142010101036**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**TEPUNG KEDELAI (*Glycine max*) SEBAGAI
HEPATOPROTEKTOR TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HATI TIKUS WISTAR JANTAN 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

**Verantika Indra Susetiyo
NIM 142010101036**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, atas rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat terselesaikan. Sholawat serta salam selalu tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita menuju jalan yang terang di muka bumi ini.

Dengan segala ketulusan, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua saya, Aiptu Susetiyo, S. H. dan Ipda Rusmiatun yang senantiasa memberikan doa dan dukungan yang tiada henti serta telah mendidik dan menjadikan saya menjadi manusia yang lebih baik;
2. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang telah mendidik dengan penuh kesabaran;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat
(terjemahan Surat *Al-Mujadalah* ayat 11)^{*)}



^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2007. *Al-Qur'an Al-Karim dan Terjemahan Makna ke Dalam Bahasa Indonesia*. Bogor: Sygma.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Verantika Indra Susetiyo

NIM : 142010101036

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul “Tepung Kedelai (*Glycine max*) sebagai Hepatoprotektor terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, 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, 07 Desember 2017

Yang menyatakan,

Verantika Indra Susetiyo
NIM 142010101036

SKRIPSI

**TEPUNG KEDELAI (*Glycine max*) SEBAGAI
HEPATOPROTEKTOR TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HATI TIKUS WISTAR JANTAN YANG
DIINDUKSI DIAZINON**

Oleh
Verantika Indra Susetiyo
NIM 142010101036

Pembimbing:

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

Dosen Pembimbing II : dr. Heni Fatmawati, M.Kes., Sp.Rad.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Tepung Kedelai (*Glycine max*) sebagai Hepatoprotektor terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon” ini telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada:

Hari, Tanggal : Kamis, 07 Desember 2017

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

dr. Rena Normasari, M.Biomed.

NIP 19830512 200812 2 002

dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech.

NIP 19840819 200912 2 003

Penguji III,

Penguji IV,

dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed.

NIP 19821211 200812 2 002

dr. Heni Fatmawati, M.Kes., Sp.Rad.

NIP 19760212 200501 2 001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes.

NIP 197002141999032001

RINGKASAN

Tepung Kedelai (*Glycine max*) sebagai Hepatoprotektor terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon; Verantika Indra Susetiyono, 142010101036; 2017; 72 halaman; Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Pertanian merupakan bidang yang paling umum dalam penggunaan pestisida. Penggunaan pestisida di Indonesia cukup tinggi. Komisi Pestisida (2014) menyebutkan bahwa pada tahun 2014 tercatat sekitar 1.790 formulasi dan 602 bahan aktif pestisida telah didaftarkan untuk mengendalikan hama pada berbagai komoditi.

Pestisida yang sering digunakan di Indonesia adalah jenis organofosfat. Diazinon merupakan pestisida golongan organofosfat yang banyak digunakan dalam suatu usaha pertanian. Paparan diazinon dapat menurunkan total protein dan metabolisme albumin. Kadar albumin dapat menurun sesuai dengan gangguan fungsi hati setelah terpapar diazinon. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa diazinon dapat menyebabkan hepatotoksitas yang ditunjukkan dengan peningkatan aktivitas enzim alkali fosfatase (ALP), alanin transaminase (ALT), aspartat transaminase (AST), dan menginduksi perubahan histopatologi dan biokimia hati dalam dosis tertentu.

Penggunaan diazinon jangka panjang memerlukan hepatoprotektor untuk mencegah efek samping yang ditimbulkan. Cara kerja hepatoprotektor yakni mencegah adanya ikatan radikal hidroksil yang belum stabil pada membran sel hati. Kandungan dalam hepatoprotektor dapat merupakan zat alami yang ada pada tumbuhan seperti isoflavon. Isoflavon adalah kelas flavonoid dan terdapat pada kacang-kacangan, termasuk kedelai (*Glycine max*). Isoflavon pada kedelai terbukti menurunkan konsentrasi ROS dan malondialdehid (MDA), meningkatkan ekspresi mRNA SOD1, SOD2, SOD3, dan GPX4, serta aktivitas superoksida dismutase (SOD) dan glutathion peroksidase (GPx) pada hati. Selain memiliki kandungan antioksidan, isoflavon dalam kedelai yakni daidzein dan genistein juga memiliki anti apoptosis.

Jenis penelitian ini adalah penelitian *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *post test only with control group design*, bertujuan untuk mengetahui pengaruh tepung kedelai (*Glycine max*) terhadap penurunan jumlah sel yang mengalami kerusakan ditinjau dari gambaran histopatologi hati tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon. Penelitian dilakukan di laboratorium Farmakologi dan laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 25 ekor tikus wistar jantan dengan berat 150-300 g yang diambil secara *simple random sampling*. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol normal (K_n), kelompok kontrol negatif ($K_{(-)}$), kelompok perlakuan 1 (K_1), kelompok perlakuan 2 (K_2), dan kelompok perlakuan 3 (K_3).

Kelompok normal (K_n) diberi normal salin. Kelompok kontrol negatif ($K_{(-)}$) diberi diazinon 40 mg/kgBB per oral selama 5 hari, kelompok perlakuan 1 (K_1),

kelompok perlakuan 2 (K_2), dan kelompok perlakuan 3 (K_3), diberi masing-masing tepung kedelai dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20% per oral selama 28 hari dan diazinon 40 mg/kgBB selama 5 hari pada hari ke 29. Setelah semua kelompok diberi perlakuan selama 33 hari dilakukan pemeriksaan gambaran histopatologi hati dengan menggunakan skoring *Roenigk*. Pembuatan tepung kedelai (*Glycine max*) dilakukan di laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian (RPHP) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Setelah penelitian selesai, data yang didapat dianalisis secara komputerisasi. Uji statistik penelitian ini menggunakan uji komparasi. Dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel <50 dan uji *Lavene* untuk mengetahui homogenitas. Data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* ($p < 0,05$).

Data yang didapat berupa hasil skoring histopatologi hati. Hasil pengukuran rata-rata skoring histopatologi hati dan standar deviasi tiap kelompok perlakuan adalah K_n $1,11 \pm 0,05$; $K_{(-)}$ $3,13 \pm 0,11$; K_1 $2,75 \pm 0,13$; K_2 $2,34 \pm 0,09$; dan K_3 $2,03 \pm 0,09$. Hasil skoring histopatologi hati dianalisis dengan menggunakan *One Way ANOVA* dan dilanjutkan uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan tes *LSD (Least Significant Difference)*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh tepung kedelai (*Glycine max*) sebagai hepatoprotektor terhadap penurunan jumlah sel hati yang mengalami kerusakan ditinjau dari gambaran histopatologi hati tikus wistar yang diinduksi diazinon ($p < 0,05$). Hasil uji korelasi *Pearson* juga menunjukkan angka koefisien korelasi (r) sebesar $-0,972$ artinya korelasinya sangat kuat. Hubungan kedua variabel signifikan karena angka signifikansi $0,00 < 0,01$, dengan arah korelasi kedua variabel adalah negatif. Hal tersebut menunjukkan bahwa korelasi kedua variabel bersifat terbalik, yaitu semakin tinggi konsentrasi yang diberikan akan semakin rendah hasil skoring histopatologi, yang menunjukkan bahwa semakin sedikit sel hepatosit yang mengalami kerusakan.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Tepung Kedelai (*Glycine max*) sebagai Hepatoprotektor terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
3. dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed., selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Heni Fatmawati, M.Kes., Sp.Rad., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
2. dr. Rena Normasari, M.Biomed., selaku Dosen Penguji Utama dan dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan petunjuk dan pengarahan untuk memperbaiki skripsi ini;
3. Bapak Susetiyo dan Ibu Rusmiatun, orang tua tercinta, terimakasih atas semua bantuan moril dan materil yang telah diberikan serta doa dan kasih sayang yang tak terbatas kepada penulis;
4. Violita Indra Susetiyo, saudariku yang selalu memberikan semangat kepada penulis;
5. Mbak Lilik selaku analis Laboratorium Farmakologi, Mbak Lilik selaku analis Laboratorium Patologi Anatomi, dan Mas Agus yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;

6. Rekan kerjaku, Sofi Aliyatul Himah, Toyyibatul Hidayati, Firman Herdiana, dan Tegar Syaiful Qodar yang telah membantu dan selalu memberikan dorongan serta semangat selama penelitian;
7. Sahabat-sahabatku, Brilliant Givya, Maria Ulfa, Nunung Nurhasanah, dan Sofi Aliyatul Himah yang telah memberikan semangat untuk cepat menyelesaikan penelitian ini;
8. Sahabat-sahabatku, Aulia Nur Ammartha Satata Saraswati, Annita Putri Agustina, Rafika Fitria Puspasari, Fariza Aulia Putri, dan Muhammad Guntur Istiqlal yang telah memberikan semangat selama penelitian;
9. Teman-teman angkatan 2014 tercinta yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Kedokteran;
10. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis mengaharap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Semoga karya tulis ini dapat bermanfaat.

Jember, 07 Desember 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN BIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Diazinon	5
2.1.1 Definisi	5
2.1.2 Sifat Fisik dan Kimia	5
2.1.3 Patomekanisme Hepatotoksisitas Diazinon	6
2.1.4 Manifestasi Kerusakan Hati karena Diazinon	7
2.2 Hati	8
2.2.1 Anatomi Hati	8
2.2.2 Histologi Hati	9
2.2.3 Reaksi Hati terhadap Jejas	13

2.3 Kedelai (<i>Glycine max</i>)	14
2.3.1 Definisi	14
2.3.2 Kandungan	15
2.3.3 Antioksidan pada Kedelai	16
2.3.4 Manfaat Kedelai	17
2.4 Tepung Kedelai	18
2.4.1 Definisi	18
2.4.2 Kandungan	18
2.5 Pemeriksaan Histopatologi	19
2.5.1 Skoring Histopatologi	23
2.6 Kerangka Konseptual Penelitian	26
2.7 Hipotesis Penelitian	27
BAB 3 METODE PENELITIAN	28
3.1 Jenis Penelitian	28
3.2 Rancangan Penelitian	28
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	29
3.4 Tempat dan Waktu Penelitian	30
3.5 Variabel Penelitian	30
3.5.1 Variabel Bebas	30
3.5.2 Variabel Terikat.....	30
3.5.3 Variabel Terkendali.....	30
3.6 Definisi Operasional	31
3.6.1 Tepung Kedelai	31
3.6.2 Gambaran Histopatologi Hati Tikus	31
3.6.3 Diazinon	31
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	32
3.7.1 Alat Penelitian	32
3.7.2 Bahan Penelitian.....	32
3.8 Prosedur Penelitian	33
3.8.1 Uji Kelayakan Etik	33
3.8.2 Perawatan Hewan Coba.....	33

3.8.3 Pembuatan Tepung Kedelai	34
3.8.4 Pemberian Tepung Kedelai	36
3.8.5 Penginduksian Diazinon.....	36
3.8.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Hati	36
3.8.7 Pengamatan Preparat Histopatologi Hati Tikus	37
3.9 Analisis Data	38
3.10 Alur Penelitian.....	39
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Hasil Penelitian	40
4.1.1 Rendemen Tepung Kedelai	40
4.1.2 Skoring Histopatologi Hati.....	40
4.2 Pembahasan	45
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	49
5.1 Kesimpulan	49
5.2 Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kandungan gizi 100 g biji kedelai.....	16
2.2 Komposisi kimia tepung kedelai dalam 100 g	18
2.3 Kandungan isoflavon pada tepung kedelai dan kedelai	19
2.4 Klasifikasi Roenigk	24
2.5 Tabel skor penilaian derajat histopatologi hepatosit	24
3.1 Pembagian kelompok perlakuan	34
3.2 Klasifikasi penilaian yang digunakan dalam penelitian.....	37
4.1 Rata-rata skoring histopatologi hati	42
4.2 Hasil uji <i>Shapiro-Wilk</i>	42
4.3 Hasil uji <i>Levene's Test</i>	43
4.4 Hasil uji <i>One Way Anova</i>	43
4.5 Hasil LSD skoring histopatologi hati	43
4.6 Hasil uji <i>Pearson</i> skoring histopatologi hati	44

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur kimia diazinon	5
2.2 Hati tikus normal	9
2.3 Struktur hati normal	10
2.4 Sistem asinus dan lobulus hati	12
2.5 Histopatologi hati	14
2.6 Kedelai	15
2.7 Degenerasi hidropis	20
2.8 Apoptosis sel hati	22
2.9 Nekrosis sel hati yang disebabkan induksi CCl ₄ 1 mL/kgBB	23
2.10 Klasifikasi Lobenhofer	25
2.11 Kerangka teori	26
3.1 Skema rancangan penelitian	28
3.2 Skema pembuatan tepung kedelai	35
3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba	39
4.1 Gambaran histopatologi hati tikus wistar jantan K _n , K ₍₋₎ , K ₁ , K ₂ , dan K ₃ dengan perbesaran 400x	41
4.2 Histogram skoring histopatologi hati	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 3.1 Tabel daftar volume maksimal larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada berbagai hewan.....	56
Lampiran 3.2 Tabel konversi dosis pada berbagai hewan coba	57
Lampiran 3.3 Perhitungan dosis diazinon	58
Lampiran 3.4 Determinasi tanaman kedelai	59
Lampiran 3.5 Persetujuan etik	62
Lampiran 4.1 Data skoring histopatologi hati	64
Lampiran 4.2 Hasil analisis statistik.....	65
Lampiran 4.3 Dokumentasi penelitian.....	70

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Iklim tropis yang dimiliki Indonesia menyebabkan Indonesia memiliki tanah yang subur dan cocok untuk ditanami berbagai macam jenis tanaman. Dalam upaya meningkatkan mutu dan produktivitas dalam bidang pertanian, penggunaan pestisida untuk membasmi hama tanaman sering tidak dapat dihindari (Anshori dan Prasetiyono, 2016). Penggunaan pestisida di Indonesia cukup tinggi. Komisi Pestisida (2014) menyebutkan bahwa pada tahun 2014 tercatat sekitar 1.790 formulasi dan 602 bahan aktif pestisida telah didaftarkan untuk mengendalikan hama pada berbagai bidang komoditi. Penggunaan pestisida secara berlebihan dan tidak tepat sering kali memberikan risiko keracunan pestisida bagi petani. *World Health Organization* (WHO) (2010) memperkirakan, setiap tahun terjadi 1–5 juta kasus keracunan pestisida pada pekerja pertanian dengan tingkat kematian mencapai 220.000 korban jiwa dan sekitar 80% keracunan dilaporkan terjadi di negara-negara berkembang. Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Desa Umbulsari, Kecamatan Umbulsari, Kabupaten Jember, pada bulan April 2015 ditemukan 73 petani menggunakan pestisida jenis organofosfat yang digunakan pada tanaman jeruk yang diaplikasikan dalam bentuk media semprot untuk mengendalikan populasi hama yang menyerang tanaman jeruk. Para petani tersebut mengalami gejala akut keracunan pestisida dengan merasa pusing dan mual jika menghirup aroma pestisida dan gejala tersebut timbul dengan penyemprotan \leq 1 jam. Penggunaan pestisida tersebut mayoritas menggunakan dosis tidak sesuai dan belum menggunakan APD dengan baik (Aribowo *et al.*, 2016).

Pestisida yang sering digunakan di Indonesia adalah jenis organofosfat (Raini, 2007). Diazinon merupakan pestisida golongan organofosfat yang banyak digunakan dalam suatu usaha pertanian untuk memberantas hama dan memiliki kemampuan untuk menggantikan organoklorin seperti DDT, aldrin, *lindane*, dan lain-lain (Yusmadi *et al.*, 2008; Christensen *et al.*, 2009). Paparan insektisida organofosfat, seperti diazinon, dapat mengganggu total protein dan metabolisme albumin, sedangkan albumin sendiri disintesis oleh hati. Kadar albumin dapat

menurun sesuai dengan gangguan fungsi hati setelah terpapar diazinon (Colovic *et al.*, 2013). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa diazinon dapat menyebabkan hepatotoksitas yang ditunjukkan dengan peningkatan aktivitas enzim alkali fosfatase (ALP), alanin transaminase (ALT), aspartat transaminase (AST), dan menginduksi perubahan histopatologi dan biokimia hati dalam dosis tertentu (Kalender *et al.*, 2005; Azmi *et al.*, 2006; Gokcimen *et al.*, 2007; Al-Attar, 2014).

Diazinon dapat menyebabkan toksisitas pada hati melalui dua cara yakni radikal bebas dan mekanisme apoptosis (Lari *et al.*, 2013). Radikal bebas dapat merusak DNA dan protein, baik melalui oksidasi basa DNA (terutama guanin melalui *peroxyl lipid* atau *alkoxyl radical*) atau melalui kovalen yang mengikat DNA mengakibatkan *strand breaks* dan *cross linking*. *Reactive oxygen species* (ROS) juga dapat menginduksi oksidasi *Sulphydril* (SH) kelompok protein dan DNA, yang akan mengubah integritas dan fungsi selular (Damodar *et al.*, 2015). Diazinon menginduksi apoptosis pada hepatosit tikus yang diberi induksi diazinon melalui aktivasi caspase-9 dan caspase-3. Sitokrom c mengaktifkan inisiator caspase dari jalur instrinsik yakni procaspase-9. Aktivasi caspase-9 secara berurutan mengaktifkan caspase lain termasuk caspase-3. Pembelahan caspase-3 melepaskan 17 dan 19 fragmen, sehingga menyebabkan apoptosis pada sel hati (Lari *et al.*, 2013).

Adanya kerusakan pada organ hati akibat paparan bahan kimia dapat dideteksi dengan melakukan pemeriksaan biokimia dan pemeriksaan histopatologi hati (Colovic *et al.*, 2013). Pemeriksaan histopatologi hati merupakan suatu pemeriksaan yang dapat membuktikan adanya kerusakan hati yang ditandai dengan adanya perubahan struktur hati dari struktur normalnya (Beydilli *et al.*, 2015). Pemeriksaan histopatologi digunakan sebagai pemeriksaan *gold standard* yang dilakukan untuk kerusakan pada struktur hati dan histopatologi merupakan pemeriksaan secara mikroskopik pada salah satu bagian jaringan dan jaringan yang diperiksa berasal dari hasil biopsi (Alswat *et al.*, 2010).

Penggunaan diazinon jangka panjang memerlukan hepatoprotektor untuk mencegah efek samping yang ditimbulkan. Cara kerja hepatoprotektor yakni

mencegah adanya ikatan radikal hidroksil yang belum stabil pada membran sel hati. Kandungan dalam hepatoprotektor tersebut dapat merupakan zat alami yang ada pada tumbuhan seperti isoflavon (Al-Attar, 2014). Isoflavon adalah kelas flavonoid tanaman dengan struktur *3-phenylchromone* dan terdapat pada kacang-kacangan, termasuk kedelai (*Glycine max*) (Waki *et al.*, 2016). Flavonoid memiliki efek sebagai *metal ion chelation*, *radical scavenging*, dan *membran protective efficiency*. Flavonoid akan menangkap ion bebas dari radikal bebas agar menjadi netral (Kumar dan Pandey, 2013). Isoflavon memiliki efek penting dalam proses pencegahan stres oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Isoflavon pada kedelai telah terbukti menurunkan konsentrasi ROS dan malondialdehid (MDA), meningkatkan ekspresi mRNA SOD1, SOD2, SOD3, dan GPX4, serta aktivitas superoksida dismutase (SOD) dan glutathion peroksidase (GPx) pada hati (Ma *et al.*, 2015). Selain memiliki kandungan antioksidan, penelitian yang dilakukan oleh Adams *et al.* (2012) dan Al-Ashaal *et al.* (2012) menyebutkan bahwa isoflavon dalam kedelai yakni daidzein dan genistein juga memiliki anti apoptosis.

Kedelai merupakan salah satu dari tujuh produk unggulan Universitas Jember selain kopi, tebu, dan singkong. Di dalam kedelai terdapat isoflavon yakni daidzein dan genistein (Funaki *et al.*, 2015). Kedelai dapat digunakan dalam bentuk olahan seperti tahu, tempe, dan tepung. Namun, kandungan isoflavon tertinggi terdapat dalam bentuk tepung dibandingkan dengan bentuk olahan lain yakni rata-rata daidzein 67,69%, genistein 89,42%, dan *glycitein* 20,02% (Bhagwat *et al.*, 2008). Selain itu, tepung kedelai terbukti dapat mengurangi risiko kerusakan hati tikus wistar jantan akut akibat induksi CCl₄ dengan meningkatkan antioksidan intraselular seperti GSH (Khan, 2012).

Sejauh ini penelitian tentang pengaruh pemberian tepung kedelai sebagai hepatoprotektor pada kerusakan hati akibat diazinon masih terbatas. Oleh karena itu, peneliti akan menguji pengaruh tepung kedelai sebagai hepatoprotektor terhadap gambaran histopatologi hati tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah pengaruh tepung kedelai (*Glycine max*) dapat menurunkan jumlah sel hati yang mengalami kerusakan ditinjau dari gambaran histopatologi hati tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh tepung kedelai (*Glycine max*) sebagai hepatoprotektor terhadap penurunan jumlah sel hati yang mengalami kerusakan ditinjau dari gambaran histopatologi hati tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Keilmuan

Penelitian ini dapat dijadikan landasan teori dan sebagai dasar pengembangan penelitian selanjutnya khususnya dalam bidang kedokteran dan toksikologi.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan dan informasi bagi masyarakat luas, khususnya masyarakat agroindustri yang menggunakan diazinon sebagai pestisida tentang manfaat tepung kedelai (*Glycine max*) sebagai hepatoprotektor.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

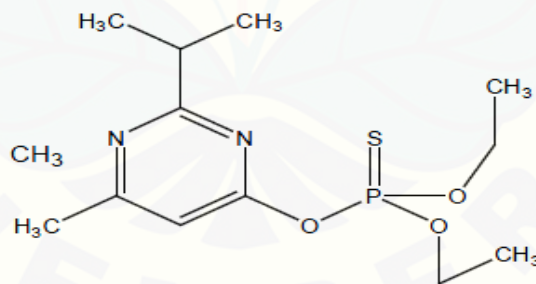
2.1 Diazinon

2.1.1 Definisi

Diazinon merupakan jenis pestisida yang termasuk ke dalam golongan organofosfat, yang merupakan suatu bahan kimia yang efektif digunakan untuk membasmi serangga. Diazinon bekerja dengan cara menghambat enzim kolinesterase secara ireversibel. Enzim ini berfungsi dalam pemecahan asetilkolin yang bersifat merangsang saraf otot (Beydilli *et al.*, 2015).

2.1.2 Sifat Fisik dan Kimia

Sifat fisik dan kimia diazinon yaitu tidak mempunyai warna, mempunyai tekanan uap $8,25 \times 10^{-5}$ mmHg pada suhu 25 °C, memiliki rumus molekul $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$ yang dapat dilihat pada Gambar 2.1, dengan berat molekul 304,36 g/mol, tingkat kelarutan dalam air 40 mg/L pada suhu 25 °C, dan memiliki koefisien penyerapan tanah (KOC) sebesar 2,28. Diazinon mempunyai nama dagang *Knox Out*, *Spectracide*, dan *Basudin* (Christensen *et al.*, 2009).



Gambar 2.1 Struktur kimia diazinon (Kim *et al.*, 2017)

Diazinon mempunyai spektrum daya bunuh yang luas. Toksisitas diazinon terhadap mamalia adalah sedang (kategori II), dengan *lethal doses* (LD_{50}) oral akut masing-masing 96-967 mg/kgBB pada tikus jantan dan 66-635 mg/kgBB pada tikus betina dan LD_{50} dermal akut pada tikus adalah >2000 mg/kgBB (kategori III), LD_{50} inhalasi akut pada tikus 3,5 mg/kgBB (kategori III, LD_{50}) untuk beberapa spesies burung 3-40 mg/kgBB, dan spesies ikan 0,4-8 $\mu\text{g/mL}$ (Wulandari *et al.*, 2007).

2.1.3 Patomekanisme Hepatotoksisitas Diazinon

Hepatotoksisitas merupakan suatu istilah yang digunakan untuk menggambarkan adanya kerusakan hati akibat penggunaan suatu zat atau obat tertentu. Diazinon dapat menyebabkan toksisitas di hati diakibatkan oleh radikal bebas dan mekanisme apoptosis. Hepatotoksisitas diazinon disebabkan oleh metabolit reaktifnya, yaitu diazoxon bersifat radikal bebas, yang dapat menimbulkan destruksi struktur dan gangguan fungsi membran sel, bahkan kematian sel (Lari *et al.*, 2013). Diazoxon menghambat jalur respirasi dari mitokondria yang menyebabkan deplesi ATP sehingga meningkatkan jumlah ROS, menghambat β -oksidasi yang mengarah pada steatosis, merusak DNA mitokondria atau menyisip pada proses replikasinya, atau secara langsung menyebabkan *mitochondria permeability transition* (MPT) yaitu dengan membuat lubang pada MPT *pore* yang letaknya ada di bagian dalam membran yang merupakan awal terjadinya kerusakan yang melibatkan penghambatan transport elektron mitokondria sampai tahap kritis dan peningkatan aktivasi ROS sitosol lebih dari batas yang ditentukan hingga menimbulkan kerusakan hati (Bayupurnama, 2006; Lari *et al.*, 2013).

Terdapatnya diazoxon dapat menurunkan kemampuan antioksidan tubuh sehingga dapat menyebabkan kerusakan organ. Stres oksidatif dipicu oleh ketidakseimbangan antara sistem antioksidan dan oksidan, kondisi tersebut yang menyebabkan toksisitas. Pemberian diazinon dengan dosis toksik pada hewan dapat menyebabkan akumulasi lemak pada hati sebagai akibat blokade sintesis lipoprotein yang berfungsi sebagai pembawa lemak dari hati. Diazoxon akan berikatan dengan gugus SH yang ada di GSH sehingga GSH akan berkurang. Berkurangnya GSH yang merupakan antioksidan alami dalam tubuh menyebabkan stres oksidatif. Radikal bebas akan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid. Proses radikal bebas akan mencari pasangan dengan berikatan pada *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA). PUFA adalah proses peroksidasi lipid. PUFA akan mengalami fragmentasi sehingga membran sel hati menjadi hancur (Ayala *et al.*, 2014). Pada hepatosit, struktur retikulum endoplasmik mengalami distorsi, sintesis protein melambat, serta aktivitas enzim dalam retikulum endoplasmik seperti *glucose-6-*

phosphatase dan sitokrom P₄₅₀ menurun, demikian pula Ca²⁺-ATPase, sehingga konsentrasi Ca²⁺ intraselular meningkat. Membran nukleus diserang dan akhirnya terjadi nekrosis hepatosit pada area sentralis (Al Attar, 2014). Hepatotoksisitas terbukti dengan adanya peningkatan kolagen intrahepatik yang didahului dengan peningkatan beberapa kadar sitokin, salah satunya interleukin 6 (IL-6). Peningkatan kadar IL-6 tersebut diakibatkan karena adanya infiltrasi dari sel-sel inflamasi (Al Attar, 2014).

Diazinon menginduksi apoptosis pada hepatosit tikus yang diberi induksi diazinon melalui aktivasi caspase-9 dan caspase-3. Selain itu, paparan diazinon secara signifikan meningkatkan rasio Bax/Bcl-2 sebesar 25% protein Bcl-2 memiliki aktivitas pro-atau antiapoptosis. Protein Bcl-2 menentukan keberlangsungan hidup pada mitokondria. Bax dianggap sebagai proapoptosis dan Bcl-2 sebagai faktor antiapoptosis (Tsujiimoto dan Shimizu, 2000; Youle dan Strasser, 2008). Anggota proapoptotik seperti Bax memiliki peran penting dalam sitokrom c dengan mengganggu potensial membran mitokondria dan mengaktifkan kaskade apoptosis intrinsik. Sitokrom c mengaktifkan inisiator caspase dari jalur intrinsik yakni procaspase-9. Aktivasi caspase-9 secara berurutan mengaktifkan caspases lain termasuk caspase-3. Pembelahan caspase-3 melepaskan 17 dan 19 fragmen, sehingga menyebabkan apoptosis pada sel hati (Lari *et al.*, 2013).

2.1.4 Manifestasi Kerusakan Hati karena Diazinon

Hati sangat rentan terhadap pengaruh zat kimia. Kerentanan itu sebagian dapat disebabkan oleh posisinya dalam sirkulasi cairan tubuh. Sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal, dan setelah diserap, toksikan dibawa oleh vena porta ke hati. Paparan diazinon yang terjadi dapat mengganggu fungsi hati karena hati merupakan tempat metabolisme bahan kimia dan zat-zat toksik. Kerusakan pada organ hati akibat paparan bahan kimia dapat dideteksi dengan melalui pemeriksaan biokimia dan pemeriksaan histopatologi hati. Salah satu pemeriksaan biokimia hati yang berguna untuk tujuan tersebut adalah pemeriksaan enzim golongan transaminase, yaitu enzim aspartat aminotransferase (AST) yang sering disebut glutamat oksaloasetat transaminase (GOT) dan enzim

alanin aminotransferase (ALT) atau sering juga disebut glutamate piruvat transaminase (GPT). Sedangkan pemeriksaan histopatologi hati merupakan suatu pemeriksaan yang dapat membuktikan adanya kerusakan hati yang ditandai dengan adanya perubahan struktur hati dari struktur normalnya (Beydilli *et al.*, 2015).

Gejala-gejala yang timbul karena penyakit hati biasanya merupakan paduan antara keadaan patologis, anatomi dan fungsi faalnya. Beberapa kerusakan pada hati yang disebabkan oleh diazinon yaitu:

- a. Degenerasi suram, berbutir-butir, albuminoid atau parenkim. Hati membesar, tepinya membulat, dan konsistensinya rapuh (Al-Attar, 2014).
- b. Perubahan piknotik pada nukleus, inflamasi periportal, dan hiperplasia sel kuppfer (Damodar *et al.*, 2015)
- c. Nekrosis hati. Nekrosis merupakan perubahan morfologi akibat degradasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang rusak, ditandai oleh perubahan dan destruksi nukleus (Al-Attar, 2014; Al-Attar *et al.*, 2016).

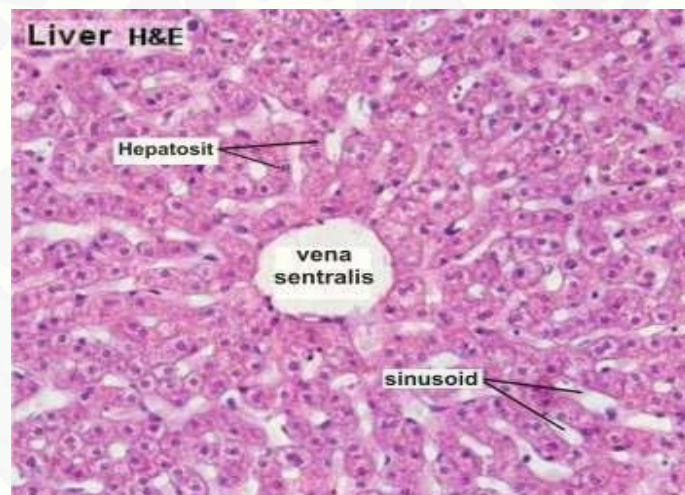
2.2 Hati

2.2.1 Anatomi Hati

Hati atau hepar terletak di bawah diafragma dalam *cavum* abdomen regio hipokondrium dekstra sampai regio epigastrium. Hati memiliki dua lobus anatomi yaitu lobus kiri dan kanan. Kedua lobus ini pada bagian anterior dipisahkan oleh ligamentum falciform sedangkan celah posterior dipisahkan oleh ligamentum venosus dan pada celah inferior oleh ligamentum teres (Sherlock dan Dooley, 2008).

Hati memiliki dua suplai aliran darah. Vena portal membawa darah vena dari usus dan limpa sedangkan arteri hepatica berasal arteri coeliaca untuk menyuplai darah yang kaya oksigen untuk hati. Di dalam porta hepatis, vena porta dan arteri hepatica terbagi menjadi dua cabang untuk lobus dekstra dan sinistra. Hati dipersarafi oleh plexus hepatica yang merupakan ganglia simpatis dari T7-T10 yang bersinaps di plexus coeliaca (Sherlock dan Dooley, 2008).

Hati manusia dan hati tikus memiliki beberapa perbedaan. Hati tikus terdiri dari empat lobus utama yang saling berhubungan di sebelah belakang. Lobus tengah dibagi menjadi kanan dan kiri oleh bifurcario yang dalam. Lobus sebelah kiri tidak terbagi, sedangkan lobus sebelah kanan terbagi secara horizontal menjadi bagian anterior dan posterior. Lobus belakang terdiri dari dua lobus berbentuk daun yang berada di sebelah dorsal dan ventral dari oesophagus sebelah kurvatura dari lambung. Tikus tidak mempunyai kandung empedu. Struktur dan komponen hati tikus sama dengan mamalia lainnya tersusun dari vena sentralis, sinusoid, dan hepatosit (Syahrizal, 2008). Gambaran histologis hati tikus dapat dilihat pada Gambar 2.2.

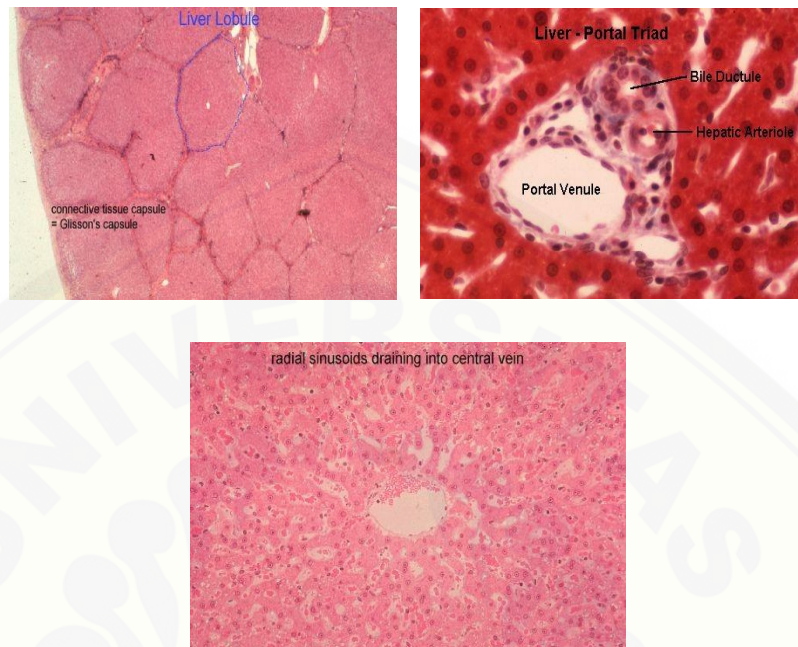


Gambar 2.2 Hati tikus normal. Struktur histologi normal vena sentralis dan hepatosit disekitarnya (Ezzeldin, *et al.*, 2014)

2.2.2 Histologi Hati

Struktur histologis hati terdiri dari beberapa lobus dan tiap lobus terbagi menjadi lobulus-lobulus, yang merupakan unit mikroskopis dan fungsional organ. Setiap lobulus merupakan badan heksagonal yang terdiri dari lempeng-lempeng sel hati berbentuk kubus, tersusun radier mengelilingi vena sentralis yang mengalirkan darah dari lobulus. Di antara lempengan sel hati terdapat kapiler-kapiler yang dinamakan sinusoid, yang merupakan cabang vena porta dan arteri hepatica. Sinusoid ini dibatasi oleh sel fagositik atau sel kupffer, yang berfungsi seperti sistem monosit-makrofag. Gambaran histologis hati normal dapat dilihat pada

Gambar 2.3. Selain cabang-cabang vena porta dan arteri hepatica yang melingkari bagian perifer lobulus hati, juga terdapat saluran empedu (Price dan Wilson, 2012).



Gambar 2.3 Struktur normal hati (Baratta *et al.*, 2009)

a. Lobulus Hati

Lobulus hati sebagai kesatuan histologis berbentuk prisma poligonal dengan diameter 1-2 mm (Leeson *et al.*, 2008). Pembagian lobulus hati sebagai unit fungsional dibagi menjadi 3 zona yang dapat dilihat pada Gambar 2.4, terdiri dari:

- 1) Zona 1: zona aktif, sel-selnya paling dekat dengan pembuluh darah, akibatnya zona ini yang pertama kali dipengaruhi oleh perubahan darah yang masuk, disebut juga *zone of permanent function*.
- 2) Zona 2: zona intermedia, sel-selnya memberi respon kedua terhadap perubahan dalam darah, disebut juga *intermediate zone*.
- 3) Zona 3: zona pasif, aktivitas sel-selnya rendah dan tampak aktif bila kebutuhan meningkat (Leeson *et al.*, 2008).

Lobus hati tikus dibagi menjadi tiga zona yang terdiri dari zona 1, zona 2, dan zona 3 yang sama dengan area periportal, midzona, dan sentrilobular. Hepatosit di zona 1 dekat dengan pembuluh aferen yang

mendapat suplai darah yang kaya akan nutrien, sedangkan zona 3 yang terdapat pada bagian ujung dari mikrosirkulasi menerima darah yang sudah mengalami pertukaran gas dan metabolit dari sel-sel zona 1 dan 2. Zona 3 selnya lebih sensitif daripada zona lainnya terhadap gangguan sirkulasi seperti iskemik, anoksia atau kongesti dan defisiensi nutrisi. Zona 2 merupakan daerah transisi antara zona 1 dan 3 yang mempunyai respon yang berbeda terhadap keadaan hemodinamik di dalam asinus dengan ditingkatkannya mikrosirkulasi (Syahrizal, 2008). Secara fungsi zona 1 memiliki kemampuan untuk glukoneogenesis sedangkan zona 3 memiliki fungsi glikolisis. Glutathion pada zona 1 lebih banyak daripada zona 3 sehingga zona 3 lebih mudah mengalami kerusakan. Sitokrom P₄₅₀ lebih banyak pada zona 3 karena sebagai tempat untuk detoksifikasi. Untuk oksigenasi pada zona 1 lebih banyak daripada zona 3 (Sherlock dan Dooley, 2008).

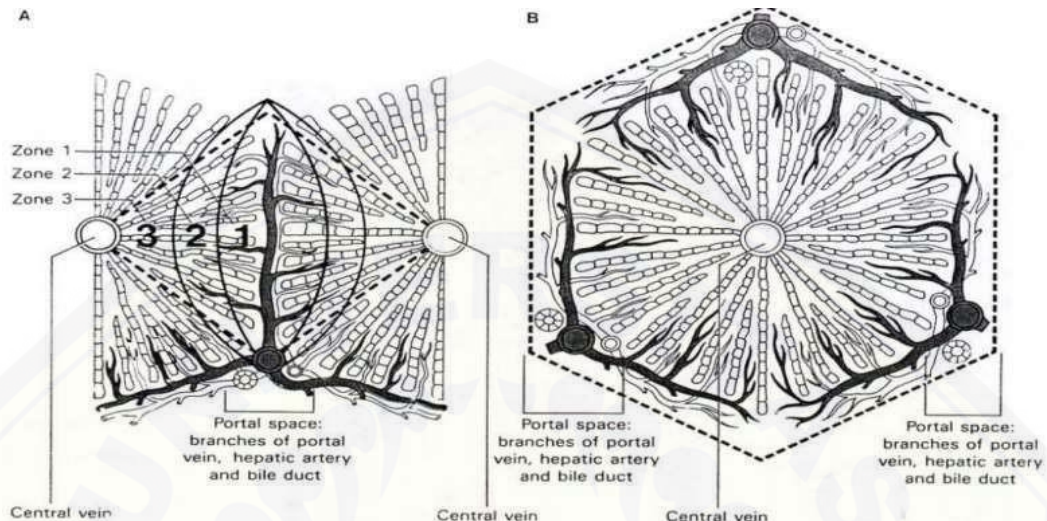
b. Parenkim Sel-sel Hati

Parenkim hati terdiri dari sel sel hati atau hepatosit, yang tersusun radier, bertumpukan, dan membentuk lapisan sel yang tebal satu sama lain. Parenkim hati tersusun dalam rangkaian lempeng-lempeng atau lembaran-lembaran cabang dan beranastomosis dengan bebas, membentuk struktur seperti busa. Celah di antara lempeng-lempeng tersebut mengandung sinusoid-sinusoid kapiler yang disebut sinusoid hati. Hepatosit berbentuk poligonal, berukuran sekitar 20 - 35 μm dengan membran sel yang jelas. Inti sel bulat atau lonjong dengan permukaan teratur dan besarnya bervariasi antara sel yang satu dengan yang lainnya. Setiap inti mempunyai granula kromatin yang tampak jelas dan tersebar dengan satu atau lebih anak inti (Leeson *et al.*, 2008).

c. Sinusoid Hati

Sinusoid hati merupakan suatu pembuluh yang melebar tidak teratur dan hanya terdiri dari satu lapisan sel-sel endotel yang tidak kontinyu. Sinusoid kapiler hati mempunyai batas yang tidak sempurna dan memungkinkan pengaliran makromolekul dengan mudah dari

lumen ke sel-sel hati dan sebaliknya. Sinusoid dikelilingi dan disokong oleh selubung serabut retikuler halus yang penting untuk mempertahankan bentuknya (Juncqueira dan Carneiro, 2007).



(a) Sistem asinus hati yang terdiri dari tiga zona yaitu zona 1, zona 2, dan zona 3; (b) Sistem lobulus hati yang terdiri dari vena porta, arteri hepatika, dan duktus empedu

Gambar 2.4 Sistem asinus dan lobulus hati (Sherlock dan Dooley, 2008)

d. Kanalikuli Biliferus

Kanalikuli biliferus merupakan celah tubuler yang hanya dibatasi oleh membran plasma hepatosit dan mempunyai sedikit mikrovili pada bagian dalamnya. Kanalikuli biliferus membentuk anastomosis yang kompleks di sepanjang lempeng-lempeng lobulus hati dan berakhir dalam daerah porta. Oleh karena itu, empedu mengalir berlawanan arah dengan aliran darah, yaitu dari tengah ke tepi lobulus. Beberapa kanalikuli biliferus membentuk duktulus biliferus yang bermuara dalam duktus biliferus dalam segitiga porta. Duktus biliferus bersatu dan membentuk duktus hati (Juncqueira dan Carneiro, 2007).

e. Triad Portal

Triad portal merupakan tempat-tempat dari tiga atau lebih unit lobulus bertemu dan akumulasi jaringan pengikat. Triad portal

mengandung cabang dari vena porta, arteri hepatica, dan duktus biliferus (Juncquiera dan Carneiro, 2007).

2.2.3 Reaksi Hati terhadap Jejas

Sel akan mempertahankan homeostasisnya dengan kemampuan adaptifnya, tetapi bila kemampuan adaptif yang berlebihan maka sel akan mengalami jejas. Penyebab terjadinya jejas yaitu, defisiensi oksigen, paparan bahan kimia, agen infeksius, reaksi imunologi, penuaan, agen fisik, dan defek genetik (Kumar *et al.*, 2012).

Hati rentan terhadap berbagai gangguan metabolik, toksik, mikroba, dan sirkulasi. Apabila sel hati terkena rangsangan patologik secara terus menerus, akan menyebabkan beberapa respons yang berbeda, sesuai dengan jenis pajanan dan lama pajanan dari rangsangan patologik. Terdapat lima respons umum yang dihasilkan hati ketika mengalami jejas (Kumar *et al.*, 2012).

Respons pertama yaitu peradangan. Peradangan mungkin terbatas di saluran porta atau mungkin terbatas ke dalam parenkim. Jika hepatosit mengalami kerusakan, makrofag akan segera menelan sel yang mati, membentuk gumpalan sel radang di parenkim yang normal. Benda asing, organisme, dan berbagai obat dapat memicu reaksi granulomatosa (Kumar *et al.*, 2012).

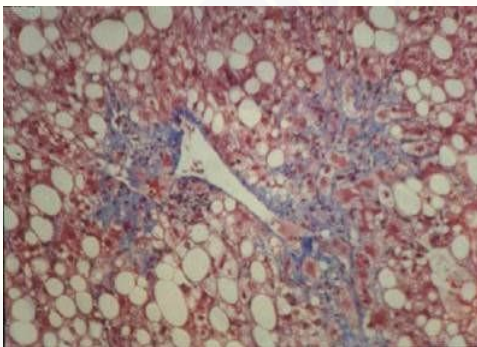
Respons kedua yaitu degenerasi. Degenerasi merupakan perubahan morfologi dan fungsi yang sifatnya reversibel. Salah satu degenerasi yang terjadi pada organ hati yaitu degenerasi lemak atau steatosis hati. Steatosis hepatoseluler biasanya muncul pada pasien pecandu alkohol. Lemak tertimbun sampai tahap pembentukan globulus makrovesikular besar yang jernih serta menekan dan menggeser nukleus ke perifer hepatosit. Steatosis hepatoseluler terjadi akibat pengalihan zat normal menjauhi katabolisme dan mengarah ke biosintesis lemak, akibat pembentukan berlebihan nikotinamida adenin dinukleotida, gangguan pembentukan dan sekresi lipoprotein, dan peningkatan katabolisme lemak perifer (Kumar *et al.*, 2012).

Respons ketiga adalah kematian sel. Kematian sel atau nekrosis merupakan kematian sel yang ireversibel. Kematian sel yang bersifat toksik atau diperantarai oleh sistem imun terjadi melalui apoptosis, hepatositnya memiliki ciri piknosis (inti

hiperkromatik dan mengecil), karioreksis (inti pecah) dan kariolisis (inti hilang) (Kumar *et al.*, 2012).

Respons keempat adalah fibrosis. Jaringan fibrosis terbentuk sebagai respon terhadap peradangan atau gangguan toksik langsung ke hati. Pengendapan kolagen akan menimbulkan dampak permanen pada pola aliran darah hati. Awalnya, fibrosis terbentuk di dalam atau di sekitar saluran porta atau vena sentralis atau mungkin mengendap langsung dalam sinusoid. Untaian dari fibrosa akan menghubungkan regio hati yang disebut *bridging fibrosis* (Kumar *et al.*, 2012).

Respons terakhir yaitu sirosis. Hati terbagi menjadi beberapa nodus hepatosit yang sekelilingnya mengalami regenerasi dan dikelilingi oleh jaringan parut yang disebut sirosis. Sirosis merupakan stadium akhir dari perjalanan penyakit hati. Gambaran histologis hati yang mengalami sirosis dapat dilihat pada Gambar 2.5.



(a)



(b)

(a) Gambaran histopatologi hati yang memiliki fibrosis dan steatosis; (b) Gambaran histopatologi hati yang mengalami sirosis.

Gambar 2.5 Histopatologi hati (Kumar *et al.*, 2012)

2.3 Kedelai

2.3.1 Definisi

Kedelai (*Glycine max*) adalah tanaman semusim yang dapat tumbuh pada musim kemarau, karena tidak memerlukan air dalam jumlah besar (Winarsi, 2010). Kedelai dikenal dengan beberapa nama botani, yaitu *Glycine soja* dan *Soja max*.

Gambar dari kedelai dapat dilihat pada Gambar 2.6. Klasifikasi tanaman kedelai sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (Berkeping dua/dikotil)
Sub Kelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Fabales</i>
Famili	: <i>Fabaceae</i> (Polong-polongan)
Genus	: <i>Glycine</i>
Spesies	: <i>Glycine max</i> (L.) Merr



Gambar 2.6 Kedelai (Irwan, 2006)

2.3.2 Kandungan

Menurut Aparicio *et al.* (2008) kandungan protein kedelai cukup tinggi. Kedelai mengandung air 9%, protein 40 %, lemak 18 %, serat 3,5 %, gula 7 % dan sekitar 18% zat lainnya. Selain itu, kandungan vitamin E kedelai sebelum pengolahan cukup tinggi. Kandungan asam lemak jenuh kedelai utama terdiri dari asam linoleat. Kandungan gizi biji kedelai disajikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan gizi 100 g biji kedelai

Kandungan Gizi	Jumlah
Karbohidrat kompleks (g)	21,00
Karbohidrat sederhana (g)	9,00
Stakiosa (g)	3,30
Rafinosa (g)	1,60
Protein (g)	36,00
Lemak total (g)	19,00
Lemak Jenuh (g)	2,88
Monounsaturated	4,40
Polyunsaturated	11,20
Kalsium (mg)	276,00
Fosfor (mg)	704,00
Kalium (mg)	1797,00
Magnesium (mg)	280,00
Seng (mg)	4,80
Zat besi (mg)	16,00
Serat tidak larut (g)	10,00
Serat larut (g)	7,00

Sumber: Winarsi (2010)

2.3.3 Antioksidan pada Kedelai

Pada umumnya, senyawa isoflavon banyak ditemukan pada tanaman kacang-kacangan atau leguminosa (Zubik dan Meydani, 2003). Isoflavon pada kedelai terdapat dalam empat bentuk, yaitu:

- a. Bentuk aglikon (non gula): genistein, daidzein, dan glycitein
- b. Bentuk glikosida: daidzin, genistin dan glisitin;
- c. Bentuk asetilglikosida: 6''-O-asetil daidzin, 6''-Oasetil genistin, 6''-O-asetil glisitin; dan
- d. Bentuk malonilglikosida: 6''-O-malonil daidzin, 6''-O-malonil genistin, 6''-Omalonil glisitin.

Isoflavon utama pada kedelai terdiri dari genistein (4',5',7-trihydroxyisoflavone) dan daidzein (4',7-dihydroxyisoflavone), serta turunan β -glikosida, gensitin dan daidzin. Ditemukan juga sejumlah kecil senyawa isoflavon lainnya seperti glycitein (7,4'-dihydroxy-6-methoxy-isoflavone) dan glikosidanya. Secara alami, isoflavon pada kedelai hampir seluruhnya terdapat dalam bentuk β -glikosida (glikon). Bentuk glikosida dipertahankan oleh tanaman sebagai bentuk inaktif sehingga dibutuhkan sebagai antioksidan. Sebagian besar isoflavon dalam kedelai atau

produk olahan kedelai terdapat dalam bentuk glikosida seperti genistin, daidzin dan glisitin yang berkonjugasi dengan mengikat satu molekul gula. Ketika produk kedelai dikonsumsi, bentuk glikosida isoflavon didegradasi menjadi senyawa aglikon dalam bentuk bebas yang dihasilkan oleh pelepasan glukosa dari glikosida. Proses degradasi glikosida menjadi aglikon seperti genistein, daidzein dan glisitein dikatalis oleh enzim glukosidase dalam usus halus. Isoflavon dalam bentuk aglikon lebih mudah diserap oleh usus halus sebagai bagian dari misel yang dibentuk oleh empedu. Sirkulasi isoflavon dalam darah bersifat kompleks, karena sebagian larut lemak dan sebagian berikatan dengan protein dengan kekuatan yang lemah. Isoflavon kemungkinan didistribusikan melalui darah ke hati, atau didaur ulang sebagai bagian dari cairan empedu dan sirkulasi enterohepatik (Schmidl dan Labuza, 2000). Selain itu, kedelai juga memiliki kandungan vitamin C sebagai antioksidan untuk mempertahankan keadaan dari senyawa bioaktif lain seperti vitamin E, flavonoid, dan fenolat (Guo *et al.*, 2012). Vitamin E dapat melindungi asam lemak tak jenuh dan melawan kerusakan oksidan pada membran sel (Niki, 2014).

2.3.4 Manfaat Kedelai

Dalam kehidupan sehari-hari, manusia terus-menerus terpapar pada sebuah bahan kimia yang berfungsi sebagai generator radikal bebas. Pada penelitian Khan dan Sultana (2011) menunjukkan dengan penggunaan isoflavon kedelai dapat mencegah kerusakan hati karena zat hepatotoksik dan dengan menggunakan isoflavon yang ada pada kedelai menunjukkan peningkatan yang signifikan terhadap GSH. Pemberian profilaksis dengan menggunakan isoflavon kedelai sebelum perlakuan CCl₄ secara signifikan menurunkan tingkat MDA. Efek profilaksis pemberian isoflavon kedelai pada CCl₄ yang dimediasi kebocoran enzim marker hati dalam serum dan administrasi CCl₄ menghasilkan kenaikan signifikan pada kadar SGOT, SGPT, dan LDH dalam serum sebesar 224%, 304% dan 64%. Sebelum perlakuan diberi isoflavon kedelai menunjukkan penurunan kadar SGOT, SGPT, dan LDH masing-masing sebesar 40%, 59%, dan 34% yang menunjukkan bahwa isoflavon memiliki pengaruh terhadap parameter biokimia hati. Selain dapat

digunakan sebagai antioksidan, penelitian yang dilakukan oleh Adams *et al.* (2012) dan Al-Ashaal *et al.* (2012) menyebutkan bahwa isoflavon dalam kedelai yakni daidzein dan genistein juga memiliki aktivitas anti apoptosis.

2.4 Tepung Kedelai

2.4.1 Definisi

Tepung kedelai adalah produk setengah jadi yang merupakan bahan dasar industri pangan. Tepung kedelai sering dikenal sebagai *soyflour* dan *grit* dan mengandung 40-50% protein. Tepung kedelai terbuat dari kedelai yang diolah dan digiling atau ditumbuk menjadi bentuk tepung (Warisno dan Dahana, 2010).

2.4.2 Kandungan

Tepung kedelai memiliki beberapa komposisi kimia yang dapat dilihat pada Tabel 2.2. Bhagwat *et al.* (2008) dalam jurnalnya “*USDA Database for the Isoflavone Content of Selected Foods*” menjelaskan bahwa kandungan isoflavon pada kedelai yang diproses menjadi tepung lebih tinggi dibandingkan kedelai mentah (belum diproses). Kandungan isoflavon tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.2 Komposisi kimia tepung kedelai dalam 100 g

Komposisi	Kandungan
Air%	4,87
Protein %	34,39
N terlarut %	4,60
N Amino %	0,05
Lemak %	25,53
Gula reduksi%	0,12
Abu%	3,72
Nilai Cerna Protein	75,49

Sumber: Widodo (2001)

Tabel 2.3 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)

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Khan dan Sultana (2011) menunjukkan bahwa isoflavon pada kedelai yakni genistein dan daidzein, berpotensi meningkatkan antioksidan seluler seperti GSH. Pemberian isoflavon kedelai sebelum keracunan CCl₄ mengembalikan kadar marker toksisitas serum dibandingkan dengan kontrol negatif hanya kelompok CCl₄. Genistein dan daidzein juga telah terbukti mencegah 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine yang merupakan formasi pada sel yang terproteksi dengan racun (Khan dan Sultana, 2011).

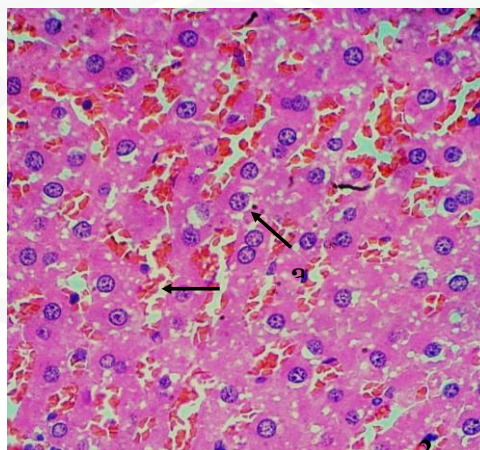
2.5 Pemeriksaan Histopatologi

Kerusakan sel hati dapat terjadi akibat toksisitas obat, xenobiotik, dan stres oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan hepatoseluler. Kerusakan hati dapat berupa perubahan yang reversibel dan ireversibel, perubahan reversibel dapat berupa pembengkakan sel (degenerasi hidropis) dan perlemakan (steatosis), sedangkan perubahan ireversibel berupa nekrosis sel hati (Kumar *et al.*, 2012).

Pada penelitian Juhryyah (2008) secara umum pemberian formulasi insektisida yang berbahan aktif metofluthrin, d-phenothrin dan d-allethrin per oral menimbulkan efek patologis baik pada parenkim maupun interstisium hati. Perubahan yang ditemukan pada parenkim hati berupa degenerasi dan apoptosis, sedangkan pada interstisium terjadi kongesti. Insektisida golongan piretroid secara umum menyebabkan terjadinya degenerasi hidropis pada hati. Degenerasi hidropis adalah terjadinya peningkatan jumlah air di dalam sel yang menyebabkan

sitoplasma dan organel sel tampak membengkak dan bervakuola. Terdapat faktor yang mengganggu kemampuan membran sel untuk melakukan transport aktif ion natrium keluar sel yang berakibat masuknya air dalam jumlah yang berlebihan ke dalam sel (Jones *et al.*, 2007). Paparan zat toksik menyebabkan hilangnya pengaturan volume pada bagian-bagian sel. Untuk mempertahankan kekonstanan lingkungan internalnya, suatu sel harus menggunakan energi metabolik untuk memompa ion natrium keluar dari sel (Price dan Wilson, 2012).

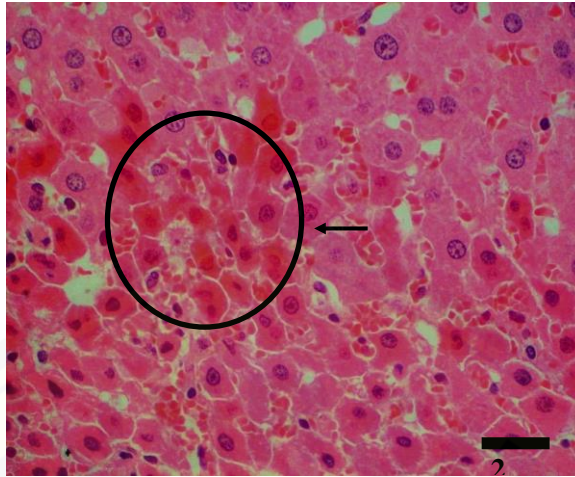
Degenerasi hidropis umumnya disebabkan oleh gangguan metabolisme seperti hipoksia atau keracunan bahan kimia (Underwood, 2010). Gangguan metabolisme sel biasanya didahului oleh berkurangnya oksigen karena pengaruh senyawa toksik ke dalam tubuh. Pembengkakan tidak hanya terjadi pada retikulum endoplasmik dan mitokondria tetapi air juga mengumpul dalam rongga-rongga sel. Secara mikroskopik, tampak vakuol-vakuol yang jernih tersebar dalam sitoplasma. Vakuol kecil-kecil bersatu membentuk vakuol lebih besar sehingga inti terdesak ke pinggir. Degenerasi hidropis yang terjadi pasca pemberian formulasi insektisida cukup parah, vakuol yang terbentuk berupa vakuol kecil-kecil dan sedikit vakuol besar tetapi belum mendesak inti ke pinggir. Perubahan ini bersifat reversibel, yaitu jika rangsang yang menimbulkan cedera dapat dihentikan, sel-sel akan kembali normal. Gambaran histopatologi degenerasi hidropis dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Degenerasi hidropis setelah pemberian formulasi insektisida, dosis 625 mg/kg (Juhryyah, 2008)

Sel hati memiliki keterbatasan dalam mendetoksifikasi bahan toksik yang masuk ke dalam tubuh, sehingga tidak semua bahan yang masuk didetoksifikasi dengan sempurna, tetapi ditimbun di dalam darah dan dapat menimbulkan berbagai kerusakan pada sel hati, diantaranya yakni terjadinya perlemakan sel hati (steatosis), nekrosis hati, dan sirosis (Price dan Wilson, 2012). Perlemakan sel hati dapat diakibatkan oleh terbentuknya radikal bebas di dalam hati yang menyebabkan peroksidasi lemak dalam membran sel. Mitokondria terserang dan melepaskan ribosom dari retikulum endoplasmik sehingga pemasokan energi yang diperlukan untuk memelihara fungsi dan struktur retikulum endoplasmik terhenti, sintesis protein menjadi menurun, sel kehilangan daya untuk mengeluarkan trigliserida, dan terjadi degenerasi perlemakan (Kumar *et al.*, 2012).

Apabila paparan zat toksik pada sel cukup hebat atau berlangsung cukup lama, maka sel akan mencapai suatu titik hingga sel tidak dapat lagi mengkompensasi dan tidak dapat melanjutkan metabolisme. Perubahan yang reversibel akan menjadi ireversibel, yaitu terjadinya kematian sel. Proses kematian sel dapat terjadi secara apoptosis dan nekrosis. Kematian sel secara apoptosis berbeda dengan nekrosis yang umumnya terjadi akibat cedera pada sel. Nekrosis adalah proses pasif disintegrasi sel, sedangkan apoptosis adalah mekanisme proses aktif yang membutuhkan energi dan sel itu sendiri aktif berpartisipasi dalam proses destruksi (Kumar *et al.*, 2012). Gambaran histopatologi apoptosis sel hati dapat dilihat pada Gambar 2.8.

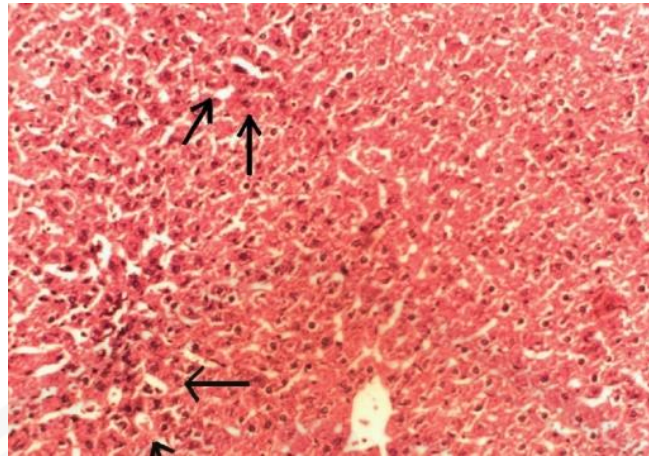


Apoptosis sel hati (←) pasca pemberian formulasi insektisida, dosis 5000 mg/kgBB

Gambar 2.8 Apoptosis Sel Hati (Juhryyah, 2008)

Nekrosis sel hati merupakan perubahan morfologi akibat degradasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang rusak, ditandai oleh perubahan dan destruksi nukleus (Kumar *et al.*, 2012). Perubahan tersebut dapat muncul dalam tiga pola yaitu kariolisis tampak terjadi pemudaran kromatin, pada pola karioreksis terjadi fragmentasi dari nukleus yang piknosis serta pola piknosis terjadinya penciutan sel dan peningkatan basofilia akibat pepadatan DNA menjadi massa yang solid (Kumar *et al.*, 2012). Secara mikroskopis jaringan nekrosis seluruhnya berwarna kemerahan dan tidak mengambil zat warna hematoxilin, sering pucat.

Nekrosis hati merupakan kematian hepatosit yang diakibatkan oleh bahan toksik seperti karbon tetraklorida (CCl_4) dan lainnya. Kematian sel terjadi bersama dengan pecahnya membran plasma, secara morfologik terjadinya edema sitoplasma, dilatasi retikulum endoplasma, dilatasi polisom, dan akumulasi trigliserid sebagai putiran lemak dalam sel. Kematian sel juga memperlihatkan terjadinya pembengkakan mitokondria, pembengkakan sitoplasma, hancurnya organel beserta inti dan pecahnya membran plasma, meskipun terjadinya kematian sel tapi tidak selalu bersifat kritis karena hati memiliki kapasitas pertumbuhan kembali (Kumar *et al.*, 2012). Gambaran histopatologi nekrosis sel hati dapat dilihat di Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Nekrosis sel hati yang disebabkan induksi CCl_4 1 mL/kgBB (Raj *et al.*, 2010)

2.5.1 Skoring Histopatologi Hati

Untuk melihat adanya perubahan pada struktur hati dan derajat kerusakan pada hati dapat dilakukan pemeriksaan histopatologi hati. Tindakan ini merupakan hal yang penting karena dapat digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis yang lebih akurat, menentukan *staging* dan *grading* dari perubahan struktur hati, menentukan terapi yang lebih tepat dan untuk menentukan prognosis dari penyakit hati tersebut (Alswat *et al.*, 2010).

Untuk mengukur perubahan mikroskopis sel hati, maka digunakan suatu sistem skoring yang digunakan untuk mempermudah dalam menghitung perubahan histopatologi yang terjadi. Beberapa sistem skoring dapat digunakan yakni sebagai berikut:

a. Klasifikasi Manja Roenigk

Cara penilaian skoring Manja Roenigk adalah dengan membaca tiap preparat jaringan hati dalam lima lapangan pandang yaitu keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan pembesaran 400 kali. Lalu setiap lapangan pandang dihitung 20 hepatosit dan dikalikan dengan skor masing-masing sel, kemudian dicari rerata skor untuk setiap sampel (Tamad *et al.*, 2011; Rohmani dan Rakhmawatie, 2015). Klasifikasi Roenigk dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Klasifikasi Roenigk

No	Tingkat Kerusakan	Skor
1	Normal	1
2	Degenerasi Parenkimatosa	2
3	Degenerasi Hidropis	3
4	Nekrosis	4

Sumber: Tamad *et al.* (2011) dan Rohmani dan Rakhmawatie (2015)

1) Nilai 1 = sel hati normal

Tampak sel berbentuk poligonal, sitoplasma berwarna merah homogen, dan dinding sel berbatas tegas.

2) Nilai 2 = sel hati degenerasi parenkimatosa

Pembengkakan sel disertai sitoplasma keruh dan bergranula.

3) Nilai 3 = sel hati degenerasi hidropis

Tampak sel sembab, terdapat akumulasi cairan dan terdapat banyak vakuola.

4) Nilai 4 = sel hati nekrosis

Merupakan kerusakan permanen sel atau kematian sel

b. Klasifikasi Mordue

Penilaian tingkat kerusakan pada hati dalam satu lapang pandang menggunakan metode skoring Mordue *et al.* (2001) berdasarkan terjadinya degenerasi dan nekrosis seperti pada Tabel 2.5

Tabel 2.5 Tabel skor penilaian derajat histopatologi hepatosit

Skor	Tingkat Kerusakan
Skor 0	Satu lapang pandang tidak dijumpai degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati
Skor 1	Satu lapang pandang dijumpai 1-20% degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati.
Skor 2	Satu lapang pandang dijumpai 21-50% degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati.
Skor 2	Satu lapang pandang dijumpai 51-75% degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati (kerusakan ringan).
Skor 3	Satu lapang pandang dijumpai lebih dari 75% degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati (kerusakan berat)

Sumber: Mordue *et al.* (2001)

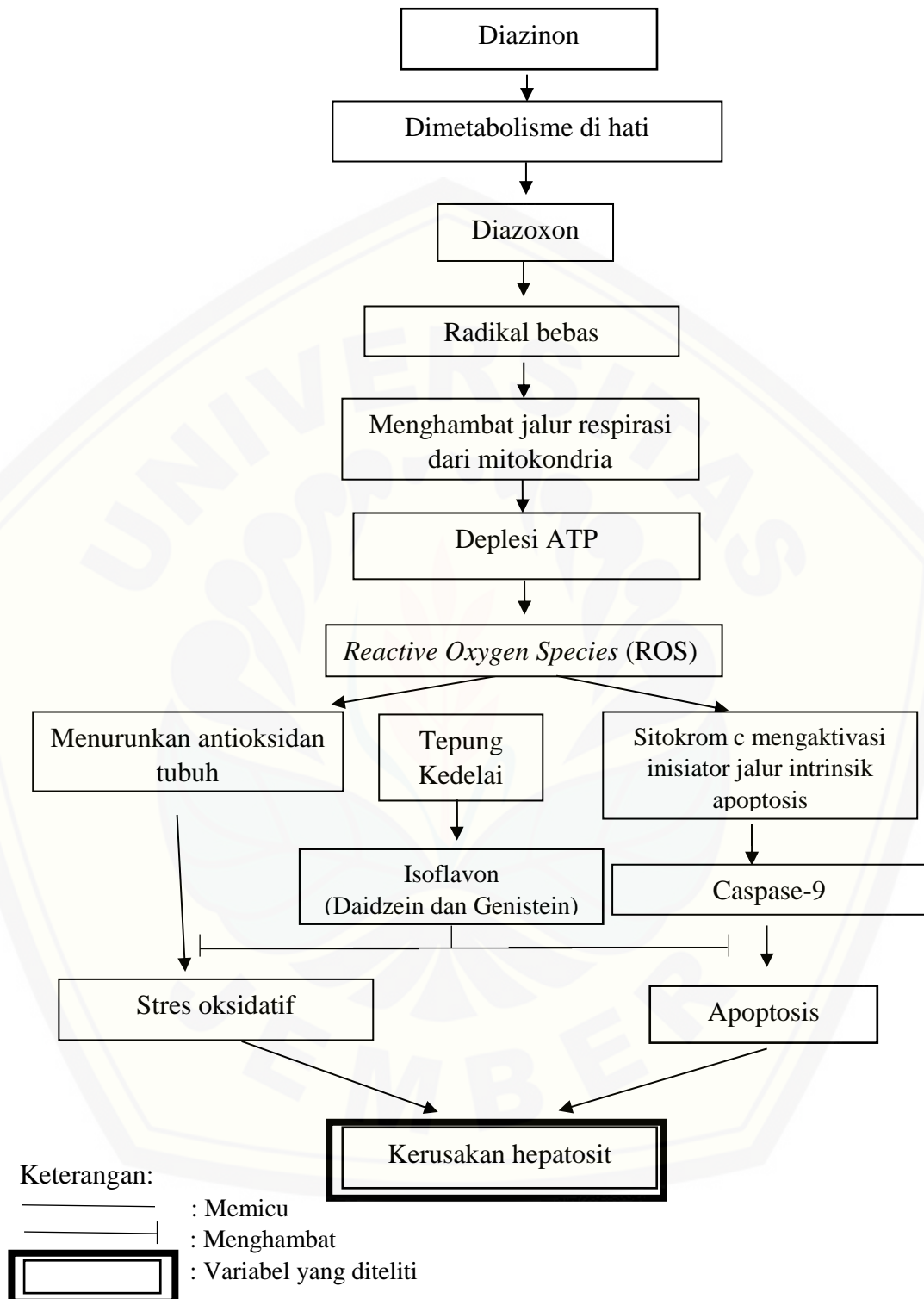
c. Klasifikasi Lobenhofer

Klasifikasi Lobenhofer terdapat pada Gambar 2.10.

Diagnosis	Minimal (1)	Mild (2)	Moderate (3)	Marked (4)
Hepatocyte Necrosis ^b	<5%	5–25%	26–50%	>50%
Hepatocyte Glycogen Depletion ^{b,c}	<5%	5–25%	26–50%	>50%
Hepatocyte Degeneration ^b	<5%	5–25%	26–50%	>50%
Mitosis (number/10 high power fields)	3–6	7–12	12–18	>18
Bile Duct Hyperplasia (based on the number or percentage of portal tracts involved)	4–10	10–20 (or 30%–50%)	50–80%	>80%
Cellular Infiltration ^{b,d}	<5%	5–25%	26–50%	>50%
Hepatocyte Hypertrophy	Subjectively graded based on the extent of lobular involvement and the relative size of hepatocytes as compared with concurrent controls			
Hepatocyte Regeneration	Hepatocyte regeneration was diagnosed when there was a combination of elevated mitoses and other changes indicative of a regenerative response such as increased cell size, enlarged nuclei, cytoplasmic basophilia and prominent nucleoli. Grading was subjective and based on the number of regenerative hepatocytes relative to the total number of hepatocytes and the number of mitotic figures			
Hemorrhage ^e	Diagnosed when there was a prominent and disproportionate amount of extravasated red blood cells compared to the degree of necrosis. Grading was subjective and based on the extent of lobular involvement			
Congestion	Subjectively graded based on the width of sinusoidal dilation relative to controls			
Hepatocyte Apoptosis	Subjectively graded based on the number of apoptotic hepatocytes relative to concurrent controls			
Hepatocyte Fatty Change	Subjectively graded based on the relative amount of cytoplasmic lipid present in the entire section			

Gambar 2.10 Klasifikasi Lobenhofer (Lobenhofer *et al.*, 2006)

2.6 Kerangka Konseptual Penelitian



Gambar 2.11 Kerangka teori

Diazinon merupakan pestisida golongan organofosfat yang diubah menjadi metabolit reaktif oleh enzim N-asetyltransferase menjadi diazoxon. Diazoxon merupakan bahan toksik yang ada di hati dan menyebabkan reaksi stres oksidatif. Pemberian diazinon dengan dosis toksik pada hewan dapat menyebabkan akumulasi lemak pada hati sebagai akibat blokade sintesis lipoprotein yang berfungsi sebagai pembawa lemak dari hati. Diazoxon ini akan berikatan dengan gugus *sulphydril* yang ada di GSH sehingga GSH akan berkurang. Berkurangnya GSH yang merupakan antioksidan alami dalam tubuh menyebabkan stres oksidatif. Radikal bebas akan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid. Proses radikal bebas akan berikatan dengan elektron dari *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA). PUFA adalah proses peroksidasi lipid. PUFA akan mengalami fragmentasi sehingga membran sel hati menjadi hancur serta membran nukleus diserang dan pada akhirnya terjadi nekrosis hepatosit.

Diazinon menginduksi apoptosis melalui aktivasi caspase-9 dan caspase-3. Anggota proapoptotik seperti Bax memiliki peran penting dalam sitokrom c dengan mengganggu potensial membran mitokondria dan mengaktifkan kaskade apoptosis intrinsik. Sitokrom c mengaktifkan inisiator caspase dari jalur intrinsik yakni procaspase-9. Aktivasi caspase-9 secara berurutan mengaktifkan caspase lain termasuk caspase-3. Pembelahan caspase-3 melepaskan 17 dan 19 fragmen, sehingga menyebabkan apoptosis pada sel hati (Lari *et al.*, 2013).

Isoflavon yang ada dalam tepung kedelai merupakan antioksidan yang dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid yang terjadi pada membran sel hati dengan cara mendonorkan elektron dan hidrogen. Selain itu isoflavon pada kedelai juga memiliki aktivitas anti apoptosis yang dapat mencegah apoptosis yang ditandai dengan terdapatnya perbaikan dari gambaran histopatologi sel-sel hati

2.7 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah maka hipotesis penelitian ini adalah pemberian tepung kedelai (*Glycine max*) dapat menurunkan jumlah sel hati tikus wistar jantan yang mengalami kerusakan pada tikus yang diinduksi diazinon ditinjau dari pemeriksaan histopatologi.

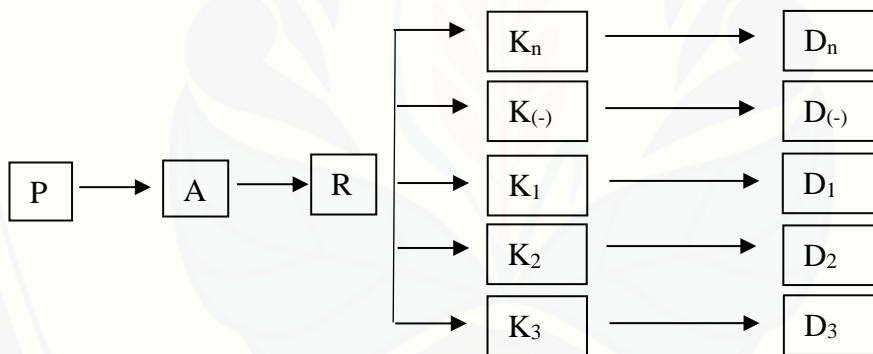
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental sebenarnya (*true experimental laboratories*) dengan rancangan penelitian *post test only control group design*.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian *post test only control group design*. Penilaian hanya dilakukan pada *post test* yaitu setelah mendapat perlakuan berupa pemberian tepung kedelai. Hasil penelitian dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Secara sistematis rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Keterangan:

- P : Populasi
- A : Adaptasi hewan coba selama 7 hari
- R : Randomisasi
- Kn : Kelompok kontrol normal
- K(-) : Kelompok kontrol negatif; diazinon 40 mg/kgBB
- K1 : Kelompok yang diberi tepung kedelai 10% dan diazinon 40 mg/kgBB
- K2 : Kelompok yang diberi tepung kedelai 15% dan diazinon 40 mg/kgBB
- K3 : Kelompok yang diberi tepung kedelai 20% dan diazinon 40 mg/kgBB
- Dn : Gambaran histopatologi Kn
- D(-) : Gambaran histopatologi K(-)
- D1 : Gambaran histopatologi K1
- D2 : Gambaran histopatologi K2
- D3 : Gambaran histopatologi K3

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

3.3 Populasi dan Sampel

Penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diperoleh dari peternak tikus yang ada di Malang. Terdapat kriteria inklusi dan eksklusi yang bertujuan untuk menentukan dapat tidaknya sampel tersebut digunakan.

- a. Kriteria inklusi sampel penelitian meliputi tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar keturunan murni, jenis kelamin jantan, tikus sehat (bergerak aktif), usia ± 3 bulan dengan berat 150-300 g, belum pernah digunakan dalam penelitian.
- b. Kriteria eksklusi meliputi menunjukkan perilaku tidak normal (tampak lemah, tidak lincah atau terlihat sakit, tidak mau makan dan minum, dan nampak agresif) dan mati sebelum proses randomisasi/sebelum mendapat perlakuan

3.3.2 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini diambil dengan teknik random sederhana (*simple random sampling*) dari populasi tikus yang kemudian akan dibagi menjadi 5 kelompok. Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus Federer, yaitu:

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$4(r-1) \geq 15$$

$$r \geq 4,75 \approx 5$$

Pada rumus tersebut, t adalah jumlah perlakuan dan r adalah banyaknya replikasi setiap kelompok perlakuan. Jadi sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 5 ekor tikus untuk 5 kelompok sehingga jumlah sampel yang digunakan adalah 25 ekor tikus.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di empat tempat, yaitu di Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian (RPHP) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember untuk pembuatan tepung kedelai, Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan tikus, Laboratorium Patologi Anatomi RSD dr. Soebandi untuk pembuatan preparat histopatologi hati, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pengamatan preparat histopatologi hati tikus. Waktu pelaksanaan adalah bulan September-November 2017.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi tepung kedelai (*Glycine max*) pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*).

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi hati tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*).

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini antara lain:

- a. Usia hewan coba
- b. Jenis kelamin tikus
- c. Berat badan tikus
- d. Pemeliharaan dan perlakuan tikus
- e. Waktu dan lama perlakuan tikus
- f. Dosis dan frekuensi pemberian diazinon

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Tepung Kedelai

Tepung kedelai adalah hasil pengolahan kedelai yang dikeringkan dan diproses hingga menjadi bentuk tepung. Jenis kedelai yang digunakan adalah kedelai dengan spesies *Glycine max*. Kedelai yang digunakan pada penelitian merupakan kedelai varian Baluran dan didapat di Pasar Tanjung. Metode penepungan yang digunakan dalam pembuatan tepung kedelai yakni metode basah yaitu diawali dengan penyortiran biji kedelai, perendaman, perebusan, pengeringan, kemudian dilanjutkan penggilingan dan pengayakan. Tepung kedelai yang diberikan kepada tikus setiap hari selama 28 hari dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20%. Tepung kedelai akan dilarutkan ke akuades dan diberikan pada tikus secara peroral (*force feeding*) dengan teknik sonde. Tepung kedelai yang digunakan pada penelitian dibuat di Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian (RPHP) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

3.6.2 Gambaran Histopatologi Hati Tikus

Gambaran histopatologi hati adalah gambaran perubahan histopatologi dari hati yang dalam penelitian ini menggunakan hati tikus wistar jantan. Kerusakan sel yang diamati menggunakan skoring *Roenigk* dengan meliputi adanya degenerasi parenkim, degenerasi hidropis, dan nekrosis yang dipulas oleh pewarnaan Hematoksin-Eosin dan diamati di bawah mikroskop masing-masing pada 5 lapang pandang mikroskopik dihitung 20 sel/lapang pandang dengan jenis data rasio. Pengamatan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember dan pengamatan dengan menggunakan mikroskop cahaya dilakukan dengan pembesaran 400x.

3.6.3 Diazinon

Diazinon adalah golongan insektisida jenis organofosfat yang digunakan untuk membunuh hama yang mengganggu pertumbuhan tanaman. Dosis diazinon yang digunakan pada penelitian ini adalah 40 mg/kgBB pada tikus secara peroral dan diberikan satu kali sehari selama 5 hari (Wulandari *et al.*, 2007). Diazinon yang

digunakan dalam bentuk cairan 600 g/L, diproduksi oleh PT. Petro Kimia Kayaku, dan didapatkan toko pertanian Pasar Tanjung, Jember. Diazinon dilarutkan dalam *corn oil* karena diazinon memiliki kelarutan yang tinggi dalam lemak dan kelarutannya rendah dalam air sehingga perlu dilarutkan dalam *corn oil* untuk mendapatkan dosis yang diinginkan.

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.
- 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 mengambil hati tikus adalah papan fiksasi, scalpel, pisau bedah, dan *handscoon*.
- f. Alat untuk membuat preparat histopatologi adalah *microtome knife*, *tissue cassette*, kayu segiempat, *waterbath*, kaca objek, dan label.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah:

- a. Bahan untuk pemeliharaan tikus adalah makanan *pellet*, air, dan sekam.
- b. Bahan untuk tepung kedelai adalah kedelai lokal varian Baluran.
- c. Bahan untuk menyonde adalah diazinon, tepung kedelai, aquadest, *corn oil*, dan normal salin.
- d. Bahan untuk membuat sediaan histopatologi hati adalah formalin 10%, parafin, etanol, xylol, Canada Balsem, Hematoksilin, dan Eosin.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Uji Kelayakan Etik

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus yang dalam pelaksanaannya harus mendapat sertifikat kelayakan etik, sehingga perlu diajukan ke Komisi Etik Kedokteran, prosedur ini bertujuan untuk menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba, melindungi hewan coba, serta memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti.

3.8.2 Perawatan Hewan Coba

Sebelum penelitian dimulai, tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk menyesuaikan dengan lingkungan baru. Makanan *pellet* dan minuman yang diberikan secara *ad libitum* pada semua kandang. Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba di sebuah kandang berukuran 45 x 30 x 20 cm dan beralaskan sekam kering. Pada kandang hewan coba masing-masing berisi 1 ekor hewan coba dengan pemberian makanan *pellet* dan minuman berupa akuades secara *ad libitum* pada semua kandang. Jumlah hewan coba adalah 25 ekor tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dibagi menjadi 5 kelompok secara randomisasi dengan kriteria tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*), sehat (bergerak aktif), dan usia ± 3 bulan. Ditentukan usia ± 3 bulan karena pada usia tersebut hewan coba telah matur. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan karena tidak terganggu oleh hormon. Berat badan hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 150-300 g karena merupakan berat badan ideal dengan luas permukaan besar memudahkan tikus untuk beradaptasi. Perlakuan hewan coba dilakukan selama 33 hari yang terdiri dari 28 hari pemberian tepung kedelai dan 5 hari diinduksi dengan diazinon dan sebelumnya telah dilakukan adaptasi selama 7 hari (Ebuehi dan Okafor, 2015).

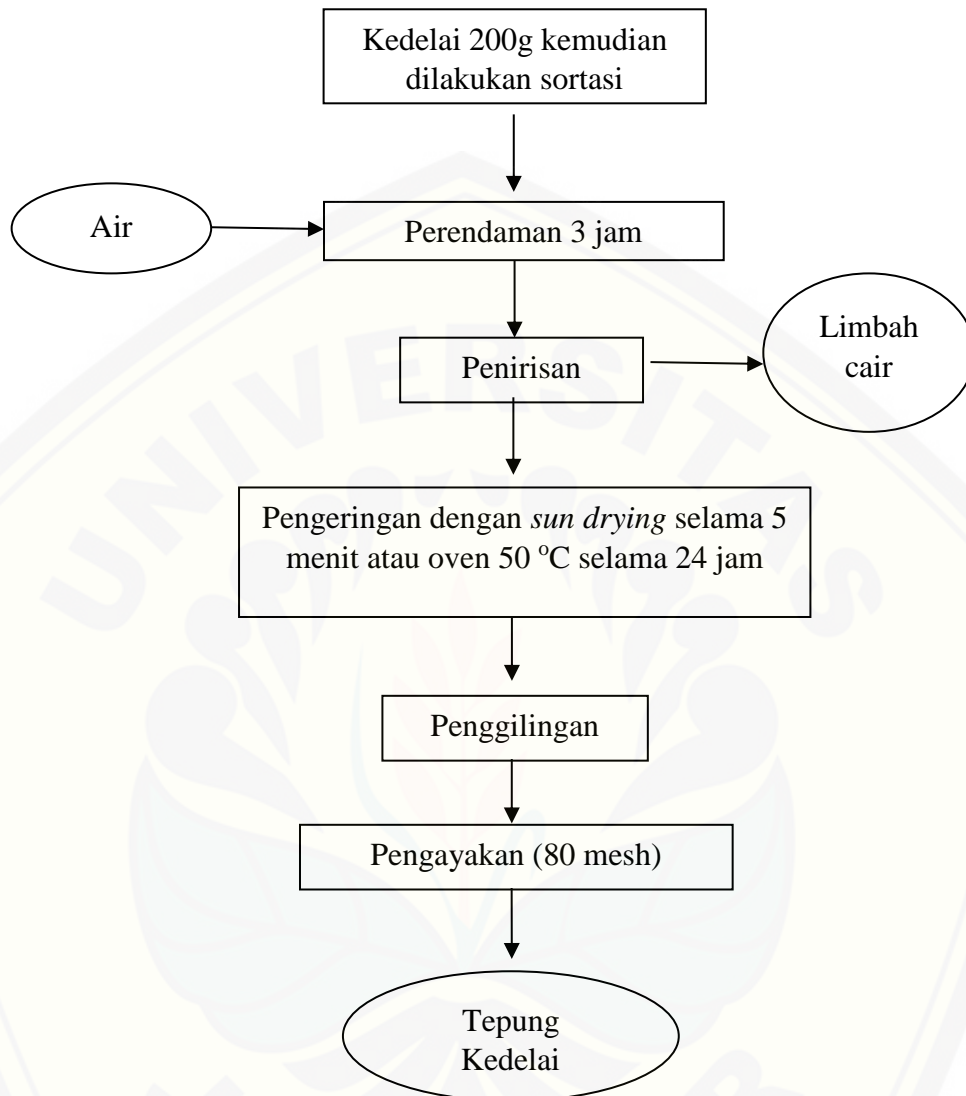
Jumlah kelompok pada penelitian ini adalah 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 tikus. Pembagian kelompok tikus dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan

Nama Kelompok	Perlakuan yang Diberikan
Kelompok Kn	Pemberian normal salin
Kelompok K ₍₋₎	Pemberian diazinon 40 mg/kgBB per oral pada hari ke-36 selama 5 hari
Kelompok K ₁	Pemberian tepung kedelai 10% per oral pada hari ke-8 selama 28 hari dan diazinon 40 mg/kgBB per oral pada hari ke-36 selama 5 hari
Kelompok K ₂	Pemberian tepung kedelai 15% per oral pada hari ke-8 selama 28 hari dan diazinon 40 mg/kgBB per oral pada hari ke-36 selama 5 hari
Kelompok K ₃	Pemberian tepung kedelai 20% per oral pada hari ke-8 selama 28 hari dan diazinon 40 mg/kgBB per oral pada hari ke-36 selama 5 hari

3.8.3 Pembuatan Tepung Kedelai

Pembuatan tepung kedelai dilakukan dengan membeli tepung kedelai yang diproses di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Adapun proses pembuatannya yakni dimulai dengan penyortiran biji kedelai yang akan digunakan pada pembuatan tepung kedelai. Penyortiran ini untuk mendapatkan biji kedelai baik, sehingga tepung yang dihasilkan akan memiliki kualitas yang baik pula. Setelah proses penyortiran dilanjutkan dengan perendaman minimum selama 3 jam. Selama perendaman untuk 200 g biji kedelai direndam dalam 600 mL air bersih. Setiap 1 - 1,5 jam sekali air diganti, lalu ditiriskan kedelai. Kemudian dilanjutkan pengeringan menggunakan panas matahari selama 4 jam dan pengovenan pada suhu 50 °C selama 24 jam. Setelah diperoleh kedelai yang kering, dilakukan penggilingan dan diayak menggunakan ayakan 80 mesh dengan pengulangan dua kali agar diperoleh tepung kedelai yang lebih optimal (Warisno dan Dahana, 2010). Skema pembuatan tepung kedelai dapat dilihat di Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema pembuatan tepung kedelai

3.8.4 Pemberian Tepung Kedelai

Pada penelitian ini diberikan konsentrasi tepung kedelai sebanyak 10%, 15%, dan 20% melalui sonde lambung selama 28 hari setelah adaptasi selama 7 hari pada masing-masing kelompok (Ebuehi dan Okafor, 2015). Tepung kedelai dilarutkan ke dalam aquadest dan diberikan pada kelompok perlakuan 1, 2, dan 3. Tepung kedelai yang diberikan yakni 10cc dengan konsentrasi yang diberikan adalah 10%, 15%, dan 20%, karena kapasitas maksimal lambung tikus adalah 5 cc, sehingga tepung kedelai diberikan 2 kali dalam sehari yakni pagi dan sore.

3.8.5 Penginduksian Diazinon

Pada penelitian Wulandari (2007) pemberian diazinon 40 mg/kgBB pada tikus selama 5 hari terbukti menyebabkan kongesti, piknosis, dan nekrosis. Diazinon dilarutkan dalam *corn oil* untuk mendapatkan dosis yang diinginkan. Diazinon memiliki kelarutan yang tinggi dalam lemak dan kelarutannya rendah dalam air sehingga perlu dilarutkan dalam *corn oil* untuk mendapatkan dosis induksi yang diinginkan (Moshiri *et al.*, 2013).

3.8.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Hati

Pembuatan dan pewarnaan histopatologi hati tikus dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSD dr. Soebandi dengan cara sebagai berikut:

- a. Tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan ether.
- b. Dilakukan laparatomi untuk mengambil hati.
- c. Pemeriksaan histopatologi organ hati dilakukan untuk melihat adanya tanda-tanda degenerasi dan nekrosis dengan menggunakan metode Parafin dan menggunakan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Jaringan hati diambil, kemudian segera difiksasi dalam larutan Formalin 10%. Dibuat sediaan dengan metode parafin, lalu jaringan dipotong dengan mikrotom setebal 3 sampai 5 mikron, kemudian dilakukan pengecatan dengan HE yang akan menyebabkan inti berwarna kebiruan dan sitoplasma berwarna merah. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan histopatologi dengan menggunakan mikroskop

cahaya dengan pembesaran 400 kali pada 5 lapang pandang untuk setiap sediaan (Rohmani dan Rakhmawatie, 2015).

3.8.7 Pengamatan Preparat Histopatologi Hati Tikus

Pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan menggunakan mikroskop cahaya. Pengamatan dilakukan berdasarkan klasifikasi Roenigk yang merupakan kriteria penilaian perubahan histopatologi hati. Peneliti menggunakan klasifikasi ini, bertujuan untuk dapat menentukan tingkat keparahan yang ditimbulkan. Preparat histopatologi hati dari tikus yang telah diberi perlakuan akan diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dengan metode zig zag untuk memperhatikan seluruh lapang pandang dalam satu preparat. Peneliti menggunakan sistem *double-blind* dan pengamatan dilakukan minimal oleh 2 orang. Setelah mengamati perubahan tersebut, peneliti dapat menentukan tingkat kerusakan dari setiap kelompok. Berikut merupakan klasifikasi penilaian yang digunakan dalam penelitian (Tabel 3.2).

Tabel 3.2 Klasifikasi penilaian yang digunakan dalam penelitian

No	Tingkat Kerusakan	Skor
1	Normal	1
2	Degenerasi Parenkimatososa	2
3	Degenerasi Hidropis	3
4	Nekrosis	4

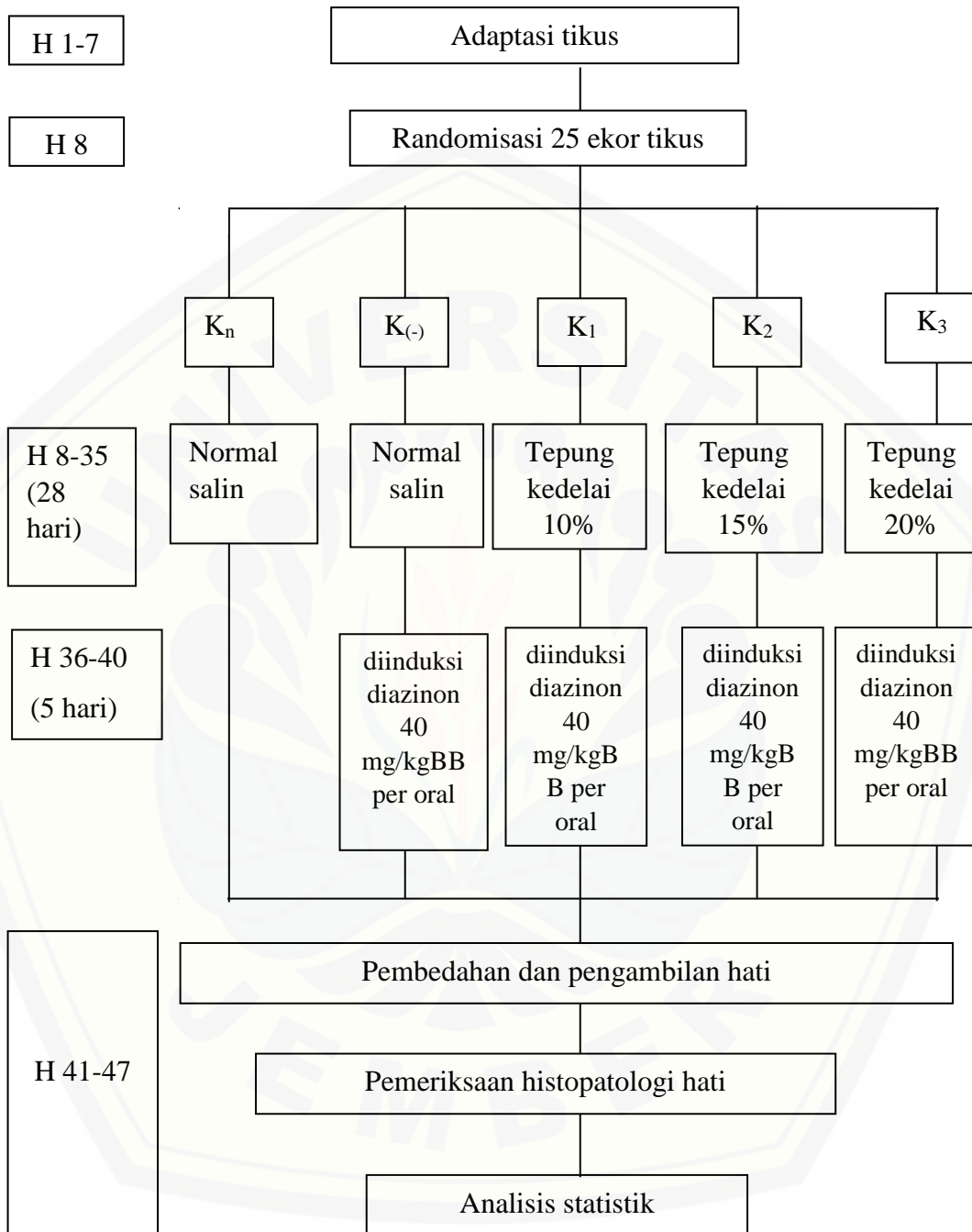
Sumber: Tamad *et al.* (2011) dan Rohmani dan Rakhmawatie (2015)

Penilaian dengan menggunakan klasifikasi Roenigk memiliki ketentuan-ketentuan yakni preparat dilihat di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 x dalam 5 lapangan pandang. Setiap lapangan pandang dihitung 20 sel hepatosit dan dinilai kerusakannya tiap sel. Kemudian dihitung rerata bobot skor tingkat kerusakan hepatosit dari lima lapangan pandang (Rohmani dan Rakhmawatie, 2015).

3.9 Analisis Data

Setelah penelitian, data yang didapat kemudian dianalisis secara komputerisasi dan dibantu dengan perangkat lunak berupa program statistik. Data yang diperoleh diolah dengan program komputer *SPSS 23.0 for Windows*. Uji statistik penelitian ini menggunakan uji komparasi. Sebelum dilakukan uji tersebut, dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel <50 dan uji *Lavene* untuk mengetahui homogenitas. Apabila data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* ($p < 0,05$). Apabila data yang didapatkan terdistribusi tidak normal dan tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis* ($p > 0,05$). Jika hasilnya signifikan ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan *LSD (Least Significantly Difference)*.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah tepung kedelai (*Glycine max*) terbukti dapat menurunkan jumlah sel hati yang mengalami kerusakan yang diinduksi diazinon yang ditunjukkan dengan perbaikan gambaran degenerasi parenkim, degenerasi hidropis, dan nekrosis pada pemeriksaan histopatologi hati.

5.2 Saran

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

1. Perlu adanya penelitian mengenai pemanfaatan potensi proteksi tepung kedelai terhadap organ hati dengan induksi jenis pestisida dengan mekanisme kerja yang berbeda dari penelitian ini.
2. Perlu adanya penelitian dengan durasi yang lebih lama untuk mengetahui efek tepung kedelai pada paparan diazinon kronis.

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): e37540.
- 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 & Environmental Chemistry*. 94(5): 965-986.
- Al-Attar, A. M. 2014. Effect of grapeseed oil on diazinon-induced physiological and histopathological alterations in rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 22(3): 284–92.
- Al-Attar, A. M., M. H. R. Elnaggar, dan E. A. Almalki. 2016. Physiological study on the influence of some plant oils in rats exposed to a sublethal concentration of diazinon. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
- Alswat, K. A., Mumtaz, K., dan Jafri, W. 2010. Liver biopsy for histological assessment: the case in favor. *Saudi Journal of Gastroenterology: Official Journal of the Saudi Gastroenterology Association*. 16(2): 133–139.
- Anshori, A. dan C. Prasetiyono. 2016. Pestisida pada budidaya kedelai di Kabupaten Bantul D. I. Yogyakarta. *Caraka Tani - Journal of Sustainable Agriculture*. 31(1): 38–44.
- Aparicio, I. M., C. Mateos-Peinado, A. Jimenez-Escrig, dan P. Ruperez. 2010. Multifunctional antioxidant activity of polysaccharide fractions from the soybean by product Okara. *Carbohydrate Polymers*. 82: 245-250.
- 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).
- Ayala, A., M. F. Muñoz, dan S. Argüelles. 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*: 2.
- Azmi, M. A., S. N. H. Naqvi, dan M. Aslam. 2006. Effect of Pesticide Residues on Health And Different Enzyme Levels In The Blood Of Farm Workers from Gadap (Rural Area) Karachi-Pakistan. *Chemosphere*. 64(10): 1739–1744.
- Baratta, J. L., A. Ngo, B. Lopez, N. Kasabwalla, J. Kenneth, dan R. T. Robertson.

2009. Cellular organization of normal mouse liver: a histological, quantitative immunocytochemical, and fine structural analysis. NIH Public Access. *Histochem Cell Bio*. 131(6): 713–726.
- Bates, N. dan A. Campbell. 2008. Organophosphate Insecticides. *Handbook of Poisoning in Dogs and Cats*. 199–204.
- Bayupurnama, P. 2006. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Universitas Indonesia Jilid I. Jakarta: Balai Penerbit FK-UI
- Beydilli, H., N. Yilmaz, E. S. Cetin, Y. Topal, O. I. Celik, C. Sahin, H. Topal, I. H. Cigerci, dan H. Sozen 2015. Evaluation of the protective effect of silibinin against diazinon induced hepatotoxicity and free-radical damage in rat liver. *Iran Red Crescent Med J*. 17(4): e25310.
- 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.
- Christensen, K., B. Harper, B. Luukinen, K. Buhl, dan D. Stone. 2009. Chlorpyrifos General Fact Sheet. National Pesticide Information Center. Oregon State University Extension Services.
- 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.
- Damodar, D., DSouza, U., dan Bhat, S. 2015. Protective role of vitamin E: on diazinon-induced hepatotoxicity by biochemical and histological alterations in Wistar rats. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*.
- Ebuehi, O. A., dan Okafor, H. K. 2015. Defatted soy flour supplementation of wheat bread ameliorates blood stress in Wistar rats. *Nig Q J Hosp Med*. 25(3): 156–63.
- Evans, J., G. S. P. Elliott, R. Berman, dan N. Guthrie. 2011. The effects of synthetic genistein on menopause symptoms management in healthy postmenopausal women: A Multi-Center, Randomized, Placebo-Controlled Study. *Maturitas*. Vol. 68.
- Ezzeldin, E., W. A. H. Souror, T. El-Nahas, A. N. M. M. Soudi, dan A. A. Shahat. 2014. Biochemical and neurotransmitters changes associated with Tramadol in streptozotocin-induced diabetes in rats. *BioMed Research International*
- Funaki, A., T. Waki, A. Noguchi, Y. Kawai, S. Yamashita, S. Takahashi, dan T. Nakayama. 2015. Identification of a highly specific isoflavone 7-O-

- glucosyltransferase in the soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Plant & Cell Physiology*. 56(8): 1512–20.
- 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.
- Guo, X., T. Li, K. Tang, dan R. H. Liu. 2012. Effect of germination on phytochemical profiles and antioxidant activity of mung bean sprouts (*Vigna radiata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60: 11050–11055.
- Irwan, A. W. 2006. Budidaya tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill). *Kajian Tanaman Kedelai*. Bandung: Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, 1–43.
- Jones, T. C., D. H. Ronald, dan W. K. Norval. 2007. *Veterinary Pathology*. 6th ed. Baltimore: Blackwell Publishing.
- Junquiera, L. C. dan J. Carneiro. 2007. Histologi Dasar, Penerjemah. A Dharma, Jakarta: EGC.
- Juhryyah, S. 2008. *Gambaran Histopatologi Organ Hati dan Ginjal Tikus pada Intoksikasi Akut Insektisida (Metofluthrin, D-Phenothrin, D-Allethrin) dengan Dosis Bertingkat*. Skripsi. Bogor. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- 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.
- Khan, T. H. 2012. Soy diet diminish oxidative and early promotional events induced by CCl₄ in rat liver. *International Journal of Pharmacology*. 8(1): 30–38.
- Khan, T. H., dan S. Sultana. 2011. Antioxidant and hepatoprotective potential of soy isoflavones against CCl₄ induced oxidative stress and early tumor events. *Indo-Global Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1(1): 39–56.
- Kim, K. H., E. Kabir, dan S. A. Jahan. 2017. Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of The Total Environment*. 575: 525–535.
- Komisi Pestisida. 2014. Pedoman Teknis Kajian Pestisida Terdaftar dan Beredar TA. 2014 *Direktorat Jendral Prasarana dan Sarana Pertanian*.

- Kumar, S. dan A. K. Pandey. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids : *An Overview*.
- Kumar, V., A. K. Abbas, dan N. Fauso. 2012. *Robbins and Cotran: Dasar Patologi Penyakit, 7th Edition*. Jakarta: EGC.
- 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 Healthy*. 31: 367–376.
- Laurence dan Bacharach. 1964. Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics, cit: Ngatidjan. 1990. Metode Laboratorium dalam Toksikologi, reviewer: Hakim, L., Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Leeson, T. S., C. R. Leeson, dan A. A. Paparo. 2008. *Buku Ajar Histologi*. Jakarta: EGC.
- Lobenhofer, E.K., G. A. Boorman, K. L. Phillips, A. N. Heinloth, D. E. Malarkey, dan P.E. Blackshear. 2006. Application of visualization tools to the analysis of histopathological data enhances biological insight and interpretation. *Toxicol Pathol*. 34: 921-8.
- Ma, X., Z. Jiang, J. Zhang, dan Y. Hu. 2015. Isoflavone ameliorates H₂O₂ induced injury by activating the antioxidant system of sow mammary gland cell. 571–580.
- Marzano, C., D. Cazals-hatem, P. Rautou, dan D. Valla. 2015. The significance of nonobstructive sinusoidal. *American Association for the study of liver disease*. 956–963.
- Mordue, D. G., F. Monroy, M. L. Regina, C. A. Dinarello, dan L. D. Sibley. 2001. Acute toxoplasmosis leads to lethal overproduction of Th, cytokines. *J Immunol*. 167: 4574-4584.
- Moshiri, M., M. Vahabzadesh, L. Etemad, dan H. Hosseinzadesh. 2013. Failure of intravenous lipid emulsion to reduce diazinon-induced acute toxicity: a pilot study in rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 4: 897-902.
- Niki E. 2014. Role of vitamin E as a lipid-soluble peroxy radical scavenger: *in vitro* and *in vivo* evidence. *Free Radical Biology and Medicine*. 66: 3-12.
- Price, S. A. dan L. M. Wilson. 2012. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses Penyakit*. Jakarta: EGC.

- Raini, M. 2007. Toksikologi Pestisida dan Penanganan akibat Keracunan Pestisida. *Media Litbang Kesehatan*. 17: 3.
- Raj, V. P., Chandrasekhar, R. H., P., V., S. A., D., Rao, M. C., Rao, V. J., dan Nitesh, K. 2010. In vitro and in vivo hepatoprotective effects of the total alkaloid fraction of *Hygrophila auriculata* leaves. *Indian Journal of Pharmacology*. 42(2): 99–104.
- Rohmani, A. dan M. D. Rakhmawatie. 2015. Efek Ekstrak Kulit Manggis terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar yang diinduksi Formalin. FK Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Schild, M.K. and T.P. Labuza. 2001. *Essentials of Functional Foods*. Aspen Publisher, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Sherlock, S. dan J. D., Dooley. 2008. *Disease of Live and Billiary System*. London: Blackwell Scientific Publication.
- Suhardjono D. 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Swarayana I. M. I., I. W. Sudira, dan I. K. Berata, 2012. Perubahan histopatologi hati mencit (*Mus musculus*) yang diberikan ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei*). *Buletin Veteriner Udayana*. 4(2): 119-125.
- Syahrizal, D. 2008. Pengaruh Proteksi Vitamin C Terhadap Enzim Transaminase dan Gambaran Histopatologis Hati Mencit yang Dipapar Plumbum. *Tesis Tidak Diterbitkan*. Medan. Sekolah Pascasarjana Biomedik.
- Tamad, F. S. U., Z. S. Hidayat, dan H. Sulistyono. 2011. Gambaran histopatologi tikus putih setelah pemberian jinten hitam dosis 500mg/kg BB, 1000 mg/kgBB dan 1500 mg/kgBB selama 21 hari (subkronik). *Jurnal Mandala of Health*. 5(3).
- Tim Perumus. 2016. *Pedoman Penulisan Karya Ilmiah*. Jember: Jember University Press.
- Tsujimoto, Y, dan S. Shimizu. 2000. Bcl-2 family: life-or-death switch. *FEBS Letters*. 466(1): 6–10.
- Underwood, J. C. E. 2010. *General and Systemic Pathology*. United Kingdom: Churchill Livingstone.
- Van Hoving, D. J., D. J. H. Veale, dan G. F. Muller. 2011. Clinical Review: Emergency management of acute poisoning. *African Journal of Emergency Medicine*. 1(2): 69–78.

- Waki, T., D. Yoo, N. Fujino, R. Mameda, K. Denessiouk, S. Yamashita, dan T. Nakayama. 2016. Biochemical and biophysical research communications identification of protein e protein interactions of isoflavonoid biosynthetic enzymes with 2-hydroxyiso flavanone synthase in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). 469: 546–551.
- Warisno dan K. Dahana. 2010. *Meraup Untung dari Olahan Kedelai*. Jakarta: PT Agro Media Pustaka.
- Widodo, S. 2001. Pengaruh Suhu dan Lama Perkecambahan Biji Kedelai (*Glycine max*) terhadap Mutu Kimia dan Nutrisi Tepung yang Dihasilkan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.
- Winarsi, H. 2010. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- World Health Organization (WHO). 2010. Pesticide Evaluation Scheme 50 Years of Global Leadership. *Who/Htm/Ntd/Whopes/2010.2*, 68.
- Wulandari, T., M. Harini, dan S. Listyawati. 2007. Pengaruh ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap struktur mikroanatomi hepar dan kadar glutamat piruvat transaminase serum mencit yang diinduksi Diazinon. *Bioteknologi*. 4(2): 53–58.
- Youle, R.J. dan A. Strasser. 2008. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 9(1): 47–59.
- Yusmadi, Nahrowi, dan M. Ridla. 2008. Kajian mutu dan palatibilitas silase dan hay ransum komplit berbasis sampah organik primer pada kambing peranakan etawah. *Jurnal Agripet*. 8(1): 31–38.
- Zubik, L. dan M. Meydani. 2003. Bioavailability of soybean isoflavon from aglycone and glucoside form in american women. *Am. J. Clin. Nutr.* 77: 1459-1465.

Lampiran 3.1 Tabel Daftar Volume Maksimal Larutan Sediaan Uji yang dapat Diberikan pada berbagai Hewan

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

Keterangan:

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

(Suhardjono D. 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal. 207)

Lampiran 3.2 Tabel Konversi Perhitungan Dosis untuk Berbagai Jenis (Spesies) Hewan Uji

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	13,25	27,8	29,7	64,1	124,2	397,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 g		0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,12	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,1	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

(Laurence and Bacharach, 1964, Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics, cit: Ngatidjan, 1990, Metode Laboratorium dalam Toksikologi, reviewer: Hakim, L., Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta)

Lampiran 3.3 Tabel Dosis Diazinon

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

Lampiran 3.4. 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 : 054/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: 1565/UN25.1.11/LT/2017, tanggal 6 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 : Verantika Indra Susetiyo
NIM : 142010101036

Atas kepercayaannya disampaikan terimakasih.

Ketua

I. 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>trifoliolate 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,

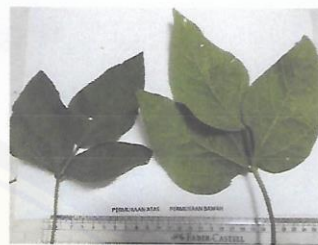


Muhammad Sugiono
NIP. 196712182001121001

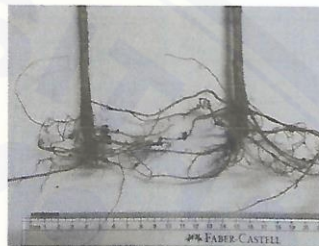
Tanaman yang di Identifikasi



Tanaman Lengkap



Daun Tanaman

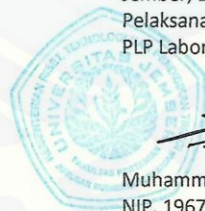



Batang & Akar



Polong (buah) dan Biji

Jember, 18 September 2017
Pelaksana Identifikasi
PLP Laboratorium Agronomi,




Muhammad Sugiono
NIP. 196712182001121001

Lampiran 3.5 Etik Penelitian



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 : 1.106 /H25.1.11/KE/2017

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 :

POTENSI TEPUNG KEDELAI (*Glycine max L.*) SEBAGAI HEPATOPROTEKTOR TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI DIAZINON

Nama Peneliti Utama : Verantika Indra Susetiyo.
Name of the principal investigator

NIM : 142010101036

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

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

Jember, 02 Oktober 2017
Ketua Komisi Etik Penelitian

Rani 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 :

- Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan (Penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R : *Reduced, Reused, Redefined*)
- Mohon diperhatikan control kualitas pembuatan preparat histopatologi hati agar didapat sediaan yang memenuhi syarat pembacaan.
- Pembacaan preparat histopatologi hati dilakukan oleh orang yang kompeten, minimal oleh 2 orang serta menggunakan metode blinding.
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Kiyanti, Sp.PK

Jember, 25 September 2017
Reviewer

dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

Lampiran 4.1 Data Skoring Histopatologi Hati

Kelompok		Normal		Deg. Parenkim		Deg. Hidropis		Nekrosis		Σ	Skor	Rata-rata
		Σ	Skor	Σ	Skor	Σ	Skor	Σ	Skor			
Kn	1	87	87	13	26	0	0	0	0	100	113	1,13
Kn	2	85	85	15	30	0	0	0	0	100	115	1,15
Kn	3	83	83	17	34	0	0	0	0	100	117	1,17
Kn	4	91	91	9	18	0	0	0	0	100	109	1,09
Kn	5	98	98	2	4	0	0	0	0	100	102	1,02
K(-)	1	0	0	19	38	51	153	30	120	100	311	3,11
K(-)	2	0	0	16	32	65	195	19	76	100	303	3,03
K(-)	3	0	0	35	70	27	81	38	152	100	303	3,03
K(-)	5	0	0	14	28	49	147	37	148	100	323	3,23
K(-)	6	0	0	16	32	40	120	44	176	100	328	3,28
K1	1	15	15	22	44	44	132	19	76	100	267	2,67
K1	2	16	16	26	52	39	117	19	76	100	259	2,59
K1	3	10	10	33	66	24	72	33	132	100	280	2,8
K1	4	6	6	22	44	45	135	27	108	100	293	2,93
K1	6	11	11	34	68	25	75	31	124	100	278	2,78
K2	1	23	23	24	48	36	108	17	68	100	247	2,47
K2	2	31	31	23	46	31	93	15	60	100	230	2,3
K2	3	27	27	35	70	21	63	17	68	100	228	2,28
K2	4	24	24	28	56	31	93	17	68	100	241	2,41
K2	6	34	34	23	46	26	78	17	68	100	226	2,26
K3	1	42	42	21	42	26	78	11	44	100	188	2,06
K3	2	36	36	31	62	23	69	10	40	100	208	2,08
K3	3	37	37	28	56	26	78	9	36	100	207	2,07
K3	4	38	38	24	48	26	78	12	48	100	212	2,12
K3	5	39	39	30	60	19	57	12	48	100	204	2,04

Lampiran 4.2 Hasil Analisis Statistik

Uji Normalitas

Tests of Normality

		Shapiro-Wilk ^a	
		df	Sig.
SkoringHistopatologi	Kelompok Normal	5	,569
	Kelompok Kontrol Negatif	5	,275
	Kelompok 1	5	,924
	Kelompok 2	5	,296
	Kelompok 3	5	,139

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

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Varians Data

Test of Homogeneity of Variances

SkoringHistopatologi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,041	4	20	,411

Uji One Way Anova**ANOVA**

SkoringHistopatologi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11,921	4	2,980	294,613	,000
Within Groups	,202	20	,010		
Total	12,124	24			

Uji Post Hoc LSD**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: SkoringHistopatologi

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Kelompok Normal	Kelompok Kontrol Negatif	-2,02400*	,06361	,000
	Kelompok 1	-1,64200*	,06361	,000
	Kelompok 2	-1,23200*	,06361	,000
	Kelompok 3	-,92600*	,06361	,000
Kelompok Kontrol Negatif	Kelompok Normal	2,02400*	,06361	,000
	Kelompok 1	,38200*	,06361	,000
	Kelompok 2	,79200*	,06361	,000
	Kelompok 3	1,09800*	,06361	,000
Kelompok 1	Kelompok Normal	1,64200*	,06361	,000
	Kelompok Kontrol Negatif	-,38200*	,06361	,000

	Kelompok 2	,41000*	,06361	,000
	Kelompok 3	,71600*	,06361	,000
Kelompok 2	Kelompok Normal	1,23200*	,06361	,000
	Kelompok Kontrol Negatif	-,79200*	,06361	,000
	Kelompok 1	-,41000*	,06361	,000
	Kelompok 3	,30600*	,06361	,000
Kelompok 3	Kelompok Normal	,92600*	,06361	,000
	Kelompok Kontrol Negatif	-1,09800*	,06361	,000
	Kelompok 1	-,71600*	,06361	,000
	Kelompok 2	-,30600*	,06361	,000

Multiple Comparisons

Dependent Variable: SkoringHistopatologi

LSD

		95% Confidence Interval	
(I) Kelompok	(J) Kelompok	Lower Bound	Upper Bound
Kelompok Normal	Kelompok Kontrol Negatif	-2,1567	-1,8913
	Kelompok 1	-1,7747	-1,5093
	Kelompok 2	-1,3647	-1,0993
	Kelompok 3	-1,0587	-,7933
Kelompok Kontrol Negatif	Kelompok Normal	1,8913	2,1567
	Kelompok 1	,2493	,5147
	Kelompok 2	,6593	,9247

	Kelompok 3	,9653	1,2307
Kelompok 1	Kelompok Normal	1,5093	1,7747
	Kelompok Kontrol Negatif	-,5147	-,2493
	Kelompok 2	,2773	,5427
	Kelompok 3	,5833	,8487
Kelompok 2	Kelompok Normal	1,0993	1,3647
	Kelompok Kontrol Negatif	-,9247	-,6593
	Kelompok 1	-,5427	-,2773
	Kelompok 3	,1733	,4387
Kelompok 3	Kelompok Normal	,7933	1,0587
	Kelompok Kontrol Negatif	-1,2307	-,9653
	Kelompok 1	-,8487	-,5833
	Kelompok 2	-,4387	-,1733

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

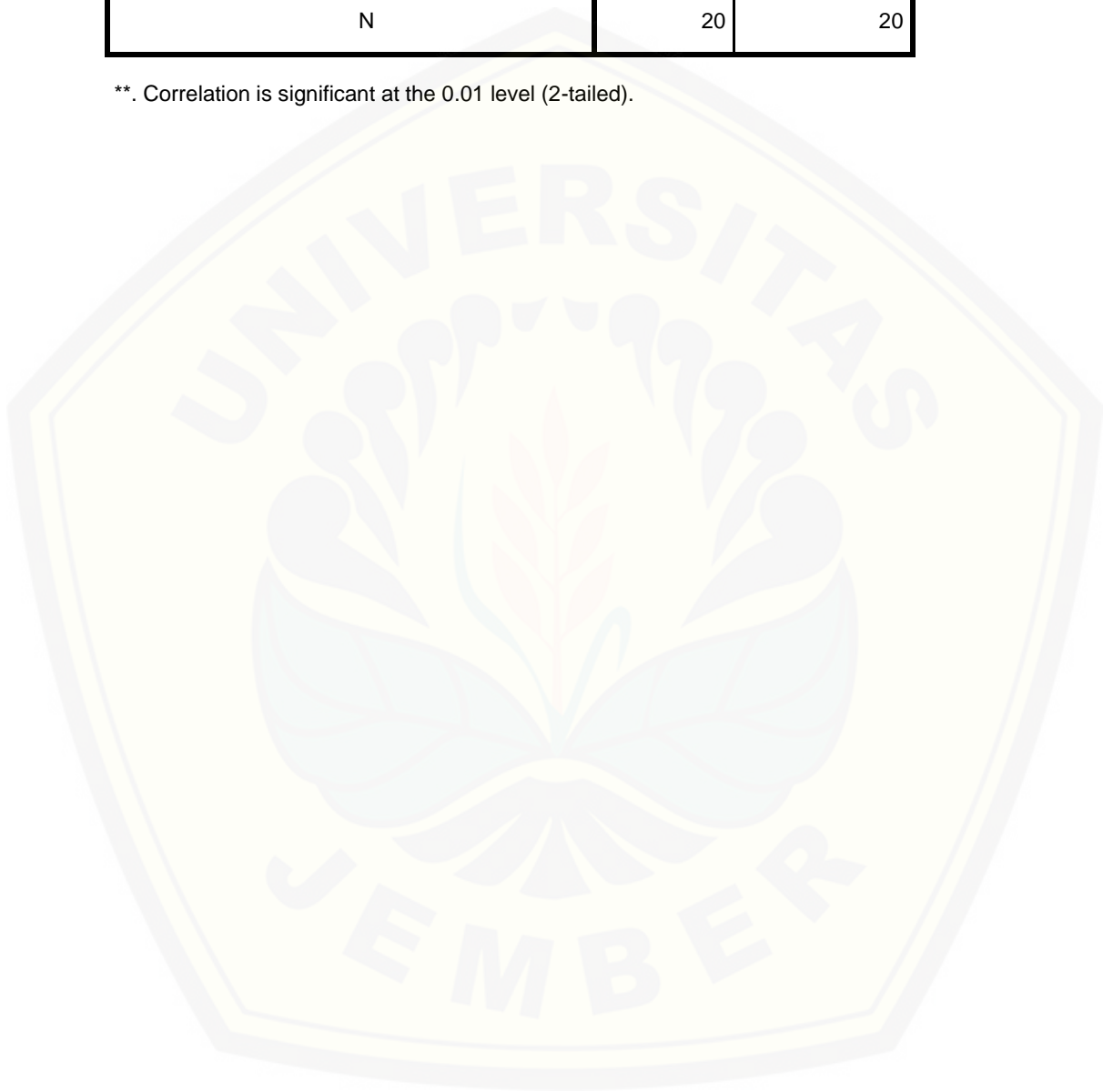
Uji Korelasi *Pearson*

Correlations

		Kelompok	SkoringHistopatologi
Kelompok	Pearson Correlation	1	-,972**
	Sig. (2-tailed)		,000

	N	20	20
SkoringHistopatologi	Pearson Correlation	-,972**	1
	Sig. (2-tailed)	,000	
	N	20	20

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



Lampiran 4.3 Dokumentasi Penelitian



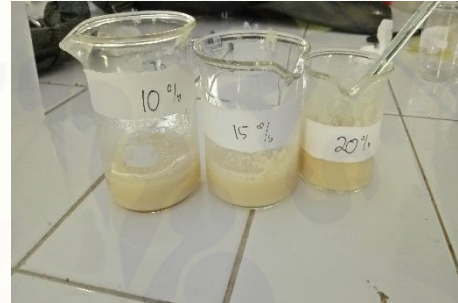
Penjemuran kedelai untuk diproses menjadi tepung



Pemanasan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 24 jam



Proses mesh tepung kedelai



Tepung kedelai yang akan diberikan per oral kepada hewan coba



Kandang hewan coba



Penyondean hewan coba



Pembedahan dan pengambilan organ hati hewan coba



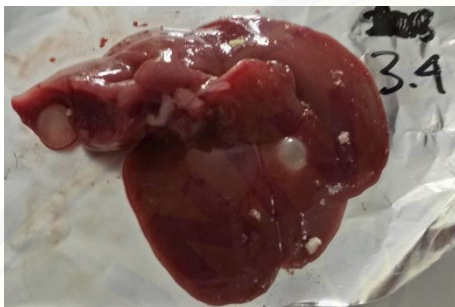
Penyucian dan fiksasi menggunakan Formalin 10% organ hati hewan coba



Organ hati kelompok K_n



Organ hati kelompok K₍₋₎



Organ hati kelompok K₁



Organ hati kelompok K₂



Organ hati kelompok K₃



Corn oil yang digunakan dalam penelitian



Diazinon yang digunakan dalam penelitian

