



**AKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR TEPUNG KEDELAI
(*Glycine max* L.) TERHADAP PENINGKATAN KADAR
MDA HATI TIKUS WISTAR JANTAN YANG
DIINDUKSI DIAZINON**

SKRIPSI

Oleh
Sofi Aliyatul Himah
NIM 142010101037

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**AKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR TEPUNG KEDELAI
(*Glycine max* L.) TERHADAP PENINGKATAN KADAR
MDA 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

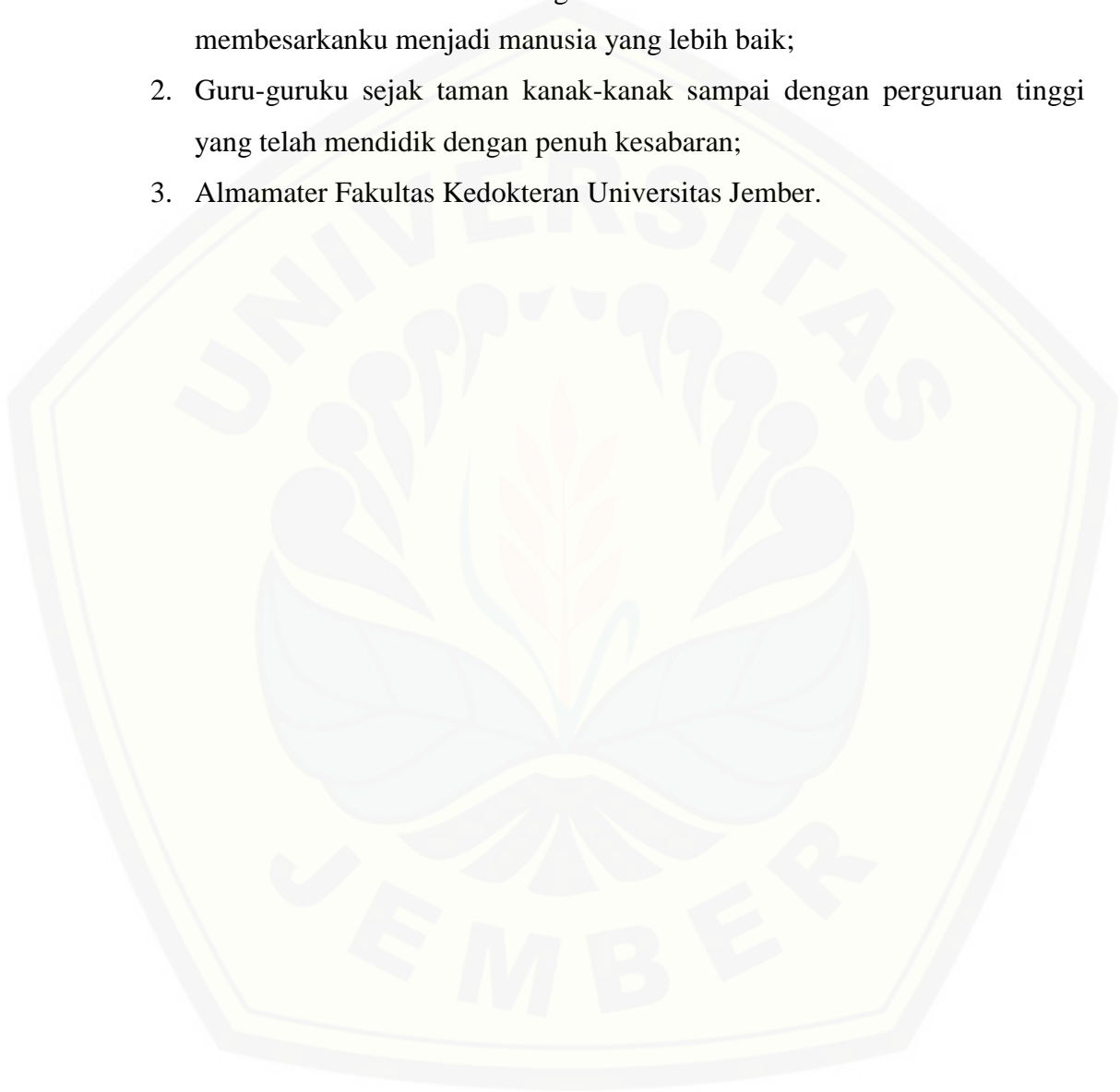
**Sofi Aliyatul Himah
NIM 142010101037**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tuaku, Bapak Sutikno dan Ibu Tatik Arlita yang senantiasa memberikan doa dan dukungan tiada henti serta telah mendidik dan membesarkanku 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.



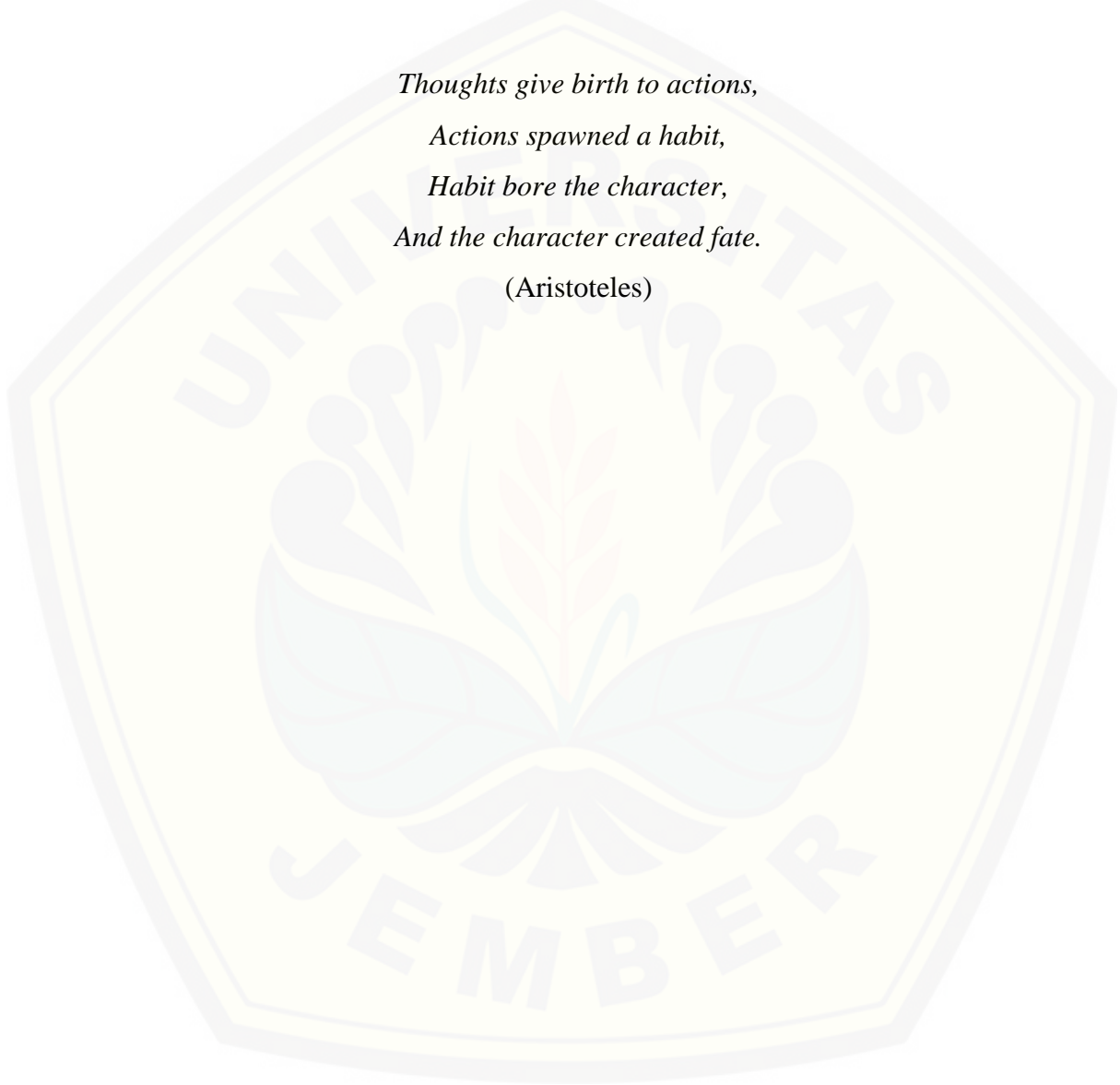
MOTO

*Siapapun yang menempuh suatu jalan untuk mendapatkan ilmu,
maka Allah akan memberikan kemudahan jalannya menuju syurga*

(H.R. Muslim)

*Thoughts give birth to actions,
Actions spawned a habit,
Habit bore the character,
And the character created fate.*

(Aristoteles)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sofi Aliyatul Himah

NIM : 142010101037

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul “Aktivitas Hepatoprotektor Tepung Kedelai (*Glycine max* L.) terhadap Peningkatan Kadar MDA 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, 8 Desember 2017

Yang menyatakan,

Sofi Aliyatul Himah
NIM 142010101037

SKRIPSI

**AKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR TEPUNG KEDELAI
(*Glycine max* L.) TERHADAP PENINGKATAN KADAR
MDA HATI TIKUS WISTAR JANTAN YANG
DIINDUKSI DIAZINON**

Oleh
Sofi Aliyatul Himah
NIM 142010101037

Pembimbing:

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

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Aktivitas Hepatoprotektor Tepung Kedelai (*Glycine max* L.) terhadap Peningkatan Kadar MDA Hati Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon” ini telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada:

Hari , Tanggal : Jumat, 8 Desember 2017

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji :

Penguji I,

Penguji II,

dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech.

dr. Rena Normasari, M.Biomed.

NIP 19840819 200912 2 003

NIP 19830512 200812 2 002

Penguji III,

Penguji IV,

dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed.

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

NIP 19821211 200812 2 002

NIP 19760212 200501 2 001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes.

NIP 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Aktivitas Hepatoprotektor Tepung Kedelai (*Glycine max* L.) terhadap Peningkatan Kadar MDA Hati Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon; Sofi Aliyatul Himah, 142010101037; 2017; 61 halaman; Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Indonesia merupakan negara agraris yang kehidupan sehari-harinya tidak lepas dari kegiatan bercocok tanam. Sayuran dan buah-buahan sebagai produk andalan negara agraris ini sering dikaitkan dengan penggunaan pestisida untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas produknya. Pada tahun 2014 tercatat sekitar 1.790 formulasi dan 602 bahan aktif pestisida telah didaftarkan untuk mengendalikan hama di berbagai bidang komoditi. Senyawa organofosfat adalah kelompok insektisida yang paling banyak digunakan di dunia. Diazinon merupakan golongan organofosfat yang paling sering digunakan sebagai *agricultural pest control*. Diazinon dimetabolisme di hati dengan menggunakan beberapa jalur metabolisme untuk menguraikan diazinon menjadi diazoxon. Diazoxon merupakan metabolit aktif yang merupakan radikal bebas bagi tubuh. Diazoxon akan menyebabkan stress oksidatif dan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid.

Peroksidasi lipid merupakan reaksi antara radikal bebas maupun oksidan yang menyerang lipid yang mengandung ikatan karbon ganda yaitu PUFA. Peroksidasi lipid melibatkan pemisahan hidrogen dari rantai karbon yang digantikan oleh oksigen menjadi *lipid peroxy radicals* dan lipid hidroperoksida. PUFA didegradasi oleh radikal-radikal bebas sehingga menghasilkan produk samping yang disebut dengan malondialdehid (MDA). Malondialdehid dapat digunakan untuk mengetahui derajat kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh peroksidasi lipid.

Penggunaan pestisida khususnya jenis diazinon yang bersifat hepatotoksik ini membutuhkan suatu hepatoprotektor untuk mengontrol kerusakan hati. Hepatoprotektor dapat ditemukan secara alami pada tumbuhan yang mengandung senyawa antioksidan. Kedelai merupakan bahan penghasil antioksidan alami, salah satu komponen terpenting dalam kedelai dan bertindak sebagai antioksidan adalah isoflavon. Kedelai sebagai salah satu produk unggulan Universitas Jember ini dapat diproses menjadi beberapa produk olahan seperti susu, tahu, tempe, dan tepung sehingga lebih aplikatif dan mudah dikonsumsi oleh berbagai lapisan masyarakat. Tepung kedelai ternyata memiliki kandungan isoflavon yang lebih tinggi dibandingkan produk olahan kedelai lainnya, yaitu dengan kandungan rata-rata daidzein sebesar 67,69%, genistein 89,42%, dan *glicitein* 20,02%. Kandungan genistein dan daidzein dalam tepung kedelai bekerja sebagai antioksidan dalam mencegah peningkatan kadar MDA tikus melalui mekanisme donor atom hidrogen dan elektron.

Jenis penelitian ini adalah penelitian *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *posttest only control group design*, bertujuan untuk

mengetahui pengaruh tepung kedelai terhadap peningkatan kadar MDA hati pada tikus yang diinduksi diazinon. Penelitian dilakukan di laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 25 ekor tikus jantan berat 150-300 gram yang diambil secara *simple random sampling*. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol normal (Kn), kelompok kontrol positif (K(-)), kelompok perlakuan 1 (K1), kelompok perlakuan 2 (K2), dan kelompok perlakuan 3 (K3). Kelompok normal (Kn) diberikan normal salin. Kelompok kontrol negatif (K(-)) disondekan diazinon yang dilarutkan dalam *corn oil* dengan dosis 40 mg/kgBB per oral pada hari ke-36 sampai hari ke-40 selama 5 hari. Kelompok perlakuan K1, K2, dan K3 disondekan tepung kedelai 10%, 15%, dan 20% per oral pada hari ke-8 selama 28 hari, kemudian disondekan diazinon yang dilarutkan dalam *corn oil* dengan dosis 40 mg/kgBB pada hari ke-29 selama 5 hari. Setelah semua kelompok diberi perlakuan selama 33 hari dilakukan pengukuran kadar MDA dari jaringan hati dengan metode TBARS. Pembuatan tepung kedelai (*Glycine max L.*) dilakukan dengan menggunakan metode penepungan basah. Kedelai didapat di pasar Tanjung, Kabupaten Jember kemudian dilakukan perendaman selama 3 jam.

Data yang didapat berupa kadar MDA dengan satuan $\mu\text{g/mL}$. Hasil pengukuran rata-rata kadar MDA dan standar deviasi tiap kelompok perlakuan adalah Kn $6,35 \pm 0,75$; K(-) $9,22 \pm 1,35$; K1 $8,84 \pm 0,33$; K2 $7,88 \pm 0,61$; K3 $7,03 \pm 0,58$. Hasil pengukuran kadar MDA Hati dianalisis dengan menggunakan *One Way ANOVA* dan dilanjutkan uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan tes LSD (*Least Significant Difference*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tepung kedelai (*Glycine max L.*) dapat mencegah peningkatan kadar MDA hati tikus yang diinduksi diazinon ($p < 0,05$). Hasil analisis data kelompok perlakuan menggunakan uji Korelasi *Pearson* menunjukkan angka koefisien korelasi *Pearson* sebesar $-0,750$, artinya besar korelasi antara kedua variabel tersebut adalah $0,750$ atau negatif kuat dan korelasi kedua variabel bersifat terbalik, yaitu semakin tinggi konsentrasi tepung kedelai yang diberikan akan semakin rendah kadar MDA hati.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Aktivitas Hepatoprotektor Tepung Kedelai (*Glycine max* L.) terhadap Kadar MDA 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;
4. dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech. dan dr. Rena Normasari, M.Biomed. sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Bapak Sutikno dan Ibu Tatik Arlita, orang tua tercinta terimakasih atas semua bantuan moril dan materiil yang telah diberikan serta doa dan kasih sayang yang tak terbatas kepada penulis;
6. Dimas Arif, saudaraku yang selalu memberikan semangat kepada penulis;
7. Mbak Nuris selaku analis Laboratorium Biokimia, Mbak Lilik selaku analis Laboratorium Farmakologi, dan Mas Agus yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;
8. Rekan-rekan kerjaku, Verantika Indra Susetiyo, Toyyibatul Hidayati, Firman Herdiana, Tegar Syaiful Qodar, dan Rudy Gunawan yang telah membantu dan selalu memberikan dorongan serta semangat selama penelitian;

9. Saudara-saudaraku, Nurdiana Cahyani, Nanda Ayu Syafira, Nafiys Hilmi, Mega Ratnasari, Trinita Dyah Permatasari, Shofi Iqda Islami, Novail Alif, Rahmat Adi P., Indah Amin, Lathifa Rusyida Gani, Wahyu Ikhwan Nanda, Anis Rahmawati, Nur Aqmarina, Moh. Faizal Akbar, yang telah memberikan semangat untuk cepat menyelesaikan penelitian ini;
10. Sahabat-sahabatku Windu Bramantio Wisnu Murti, Nyda Afsari, Pinka Aprila, dan Ain Insani, yang telah memberikan semangat selama penelitian;
11. Teman-teman angkatan 2014 tercinta yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Kedokteran;
12. 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, 8 Desember 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pestisida	5
2.1.1 Definisi Pestisida.....	5
2.1.2 Penggolongan Pestisida.....	5
2.2 Diazinon	6
2.2.1 Definisi Diazinon	6
2.2.2 Sifat Fisik dan Kimia Diazinon	7
2.2.3 Toksisitas Diazinon	8
2.2.4 Patomekanisme Hepatotoksik Diazinon	10
2.3 Anatomi dan Fisiologi Hati	10

2.4 Malondialdehid (MDA)	12
2.5 Kedelai (<i>Glycine max</i> L.)	14
2.5.1 Definisi Kedelai.....	14
2.5.2 Kandungan Kedelai	14
2.5.3 Antioksidan pada Kedelai	15
2.6 Tepung Kedelai	16
2.6.1 Definisi Tepung Kedelai	16
2.6.2 Kandungan Tepung Kedelai	17
2.6.3 Metode Penepungan.....	19
2.7 Kerangka Konseptual Penelitian	21
2.8 Hipotesis Penelitian	22
BAB 3. METODE PENELITIAN	23
3.1 Jenis Penelitian	23
3.2 Rancangan Penelitian	23
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	24
3.4 Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.5 Variabel Penelitian	25
3.5.1 Variabel Bebas	25
3.5.2 Variabel Terikat.....	25
3.5.3 Variabel Terkendali.....	25
3.6 Definisi Operasional	26
3.6.1 Tepung Kedelai (<i>Glycine max</i> L.)	26
3.6.2 Kadar MDA Hati	26
3.6.3 Diazinon	26
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	27
3.7.1 Alat Penelitian	27
3.7.2 Bahan Penelitian.....	27
3.8 Prosedur Penelitian	27
3.8.1 Uji Kelayakan Etik	27
3.8.2 Pemilihan Hewan Coba	28
3.8.3 Adaptasi Hewan Coba.....	28

3.8.4	Pembagian Kelompok Perlakuan	28
3.8.5	Pembuatan Tepung Kedelai	28
3.8.6	Pemberian Tepung Kedelai	31
3.8.7	Penginduksian Diazinon.....	31
3.8.8	Terminasi Hewan Coba.....	31
3.8.9	Pemeriksaan Kadar MDA Hati	31
3.9	Analisis Data	32
3.10	Alur Penelitian.....	34
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1	Hasil Penelitian.....	35
4.1.1	Rendemen Tepung Kedelai	35
4.2.2	Kadar MDA	35
4.2	Pembahasan	38
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1	Kesimpulan	41
5.2	Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Nama dan struktur molekul diazinon	7
2.2 Komposisi zat gizi dalam 100 gram kedelai	15
2.3 Kadar isoflavon total dalam berbagai produk olahan kedelai.....	17
2.4 Komposisi kimia tepung kedelai dalam 100 g.....	17
2.5 Tahapan peroksidasi lipid dan antioksidan	19
3.1 Pembagian kelompok perlakuan	28
4.1 Rata-rata kadar MDA hati	35
4.2 Hasil LSD kadar MDA hati	36

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur kimia diazinon	7
2.2 Histologi hati	11
2.3 Struktur kimia MDA.....	12
2.4 Kedelai.....	14
2.5 Kerangka konsep	21
3.1 Rancangan penelitian.....	23
3.2 Skema pembuatan tepung kedelai	30
3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba	32
4.1 Histogram rata-rata kadar MDA hati	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 3.1 Tabel daftar volume maksimal larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada berbagai hewan.....	48
Lampiran 3.2 Tabel konversi dosis pada berbagai hewan coba.....	49
Lampiran 3.3 Perhitungan dosis diazinon.....	50
Lampiran 3.4 Keterangan determinasi tanaman.....	51
Lampiran 3.5 Keterangan persetujuan etik.....	53
Lampiran 4.1 Kurva standar MDA.....	55
Lampiran 4.2 Data kadar MDA hati.....	56
Lampiran 4.3 Hasil analisis statistik.....	57
Lampiran 4.4 Dokumentasi penelitian.....	60

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan negara agraris yang kehidupan sehari-harinya tidak lepas dari kegiatan bercocok tanam. Sayuran dan buah-buahan sebagai produk andalan negara agraris ini sering dikaitkan dengan penggunaan pestisida untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas produknya. Pada tahun 2014 tercatat sekitar 1.790 formulasi dan 602 bahan aktif pestisida telah didaftarkan untuk mengendalikan hama di berbagai bidang komoditi (Komisi Pestisida, 2014).

Pestisida dibagi menjadi 4 golongan, yaitu organoklorin, organofosfat, karbamat, dan piretroid (Hudayya dan Jayanti, 2012). Senyawa organofosfat adalah kelompok pestisida yang paling banyak digunakan di dunia. Berdasarkan studi pendahuluan yang dilakukan oleh Aribowo *et al.* (2016), di Desa Umbulsari Kecamatan Umbulsari Kabupaten Jember pada bulan April 2015 ditemukan 73 petani melakukan perawatan tanaman jeruk menggunakan pestisida jenis organofosfat.

Golongan organofosfat yang paling sering digunakan yaitu diazinon. Diazinon umumnya digunakan pada tanaman buah, padi, tebu, jagung, tembakau dan tanaman hortikultura karena sangat efektif memberantas dan membasmi hama-hama tanaman seperti kutu daun, lalat, wereng, kumbang penggerek padi, dan sebagainya (Agustina, 2016). Hal ini terbukti pada penelitian Asmita (2010) bahwa telah ditemukan residu pestisida diazinon pada bawang merah di Alahan Panjang dan Sungai Nanam Kecamatan Lembah Gumati Padang melebihi nilai Batas Maksimum Residu (BMR) yaitu 2,006 mg/kg dan 1,764 mg/kg.

Organofosfat umumnya cepat didekomposisi di lingkungan dan tidak bersifat bioakumulatif, namun memiliki daya racun dan toksisitas yang besar (Aribowo *et al.*, 2016). Berdasarkan hasil penelitian Aribowo *et al.*, (2016) di desa Umbulsari, Kecamatan Umbulsari, Kabupaten Jember didapatkan 27,27% dari seluruh responden petani jeruk penyemprot pestisida golongan organofosfat mengalami gejala keracunan akut seperti pusing, mata berair, dan mual-mual. Sekitar 80% kasus keracunan pestisida dilaporkan terjadi di negara-negara

berkembang (Komisi Pestisida, 2014). Organisasi kesehatan dunia (WHO) memperkirakan setiap tahun, terjadi 1-5 juta kasus keracunan pestisida pada pekerja pertanian dengan tingkat kematian mencapai 220.000 korban jiwa.

Beberapa penelitian menunjukkan diazinon bersifat hepatotoksik. Diazinon dapat meningkatkan kadar serum alkalin fosfatase, alanin transaminase, aspartat transaminase, *gamma glutamyl transferase*, bilirubin total, kreatinin, dan malondialdehid (Al-Attar *et al.*, 2016). Diazinon mengandung radikal bebas yang dapat menyebabkan stres oksidatif dan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid (Oksay, 2012). Peroksidasi lipid merupakan reaksi antara radikal bebas dan oksidan yang menyerang lipid yang mengandung ikatan karbon ganda (PUFA). Peroksidasi lipid melibatkan pemisahan hidrogen dari rantai karbon yang digantikan oleh oksigen menjadi *lipid peroxy radicals* dan lipid hidroperoksida (Ayala *et al.*, 2014). PUFA didegradasi oleh radikal-radikal bebas sehingga menghasilkan produk samping yang disebut dengan malondialdehid (MDA). Malondialdehid dapat digunakan untuk mengetahui derajat kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh peroksidasi lipid (Retno *et al.*, 2012).

Penggunaan pestisida khususnya jenis diazinon yang bersifat hepatotoksik ini membutuhkan suatu hepatoprotektor untuk mengontrol kerusakan hati. Hepatoprotektor bekerja dengan mencegah adanya ikatan hidroksil yang diakibatkan oleh radikal bebas. Hepatoprotektor dapat ditemukan secara alami pada tumbuhan yang mengandung senyawa antioksidan (Al-Attar *et al.*, 2016). Senyawa antioksidan ini diyakini dapat menetralkan efek negatif radikal bebas pada sel-sel tubuh. Senyawa fenolik adalah salah satu senyawa yang memiliki sifat antioksidan dan mampu mencegah serangan penyakit degeneratif terkait *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Ozcan *et al.*, 2014). Senyawa fenolik seperti flavonoid, eugenol, dan saponin merupakan antioksidan yang dapat berperan sebagai hepatoprotektor karena mencegah ikatan radikal bebas yang belum stabil pada membran hati. Kedelai merupakan bahan penghasil antioksidan alami, salah satu komponen terpenting dalam kedelai dan bertindak sebagai antioksidan adalah isoflavon. Isoflavon merupakan salah satu senyawa yang termasuk golongan flavonoid dan merupakan bagian terbesar dalam golongan tersebut. Isoflavon

dalam kedelai berupa genistein, daidzein, dan *glicitein* (Evans *et al.*, 2011). Isoflavon mampu merangsang ekspresi Cu-Zn Sod yang dapat melindungi sel dari serangan stres oksidatif sehingga tidak terbentuk produk peroksidasi lipid yang berkepanjangan (Retno, 2012). Isoflavon bekerja melalui beberapa mekanisme, yang pertama sebagai *hidrogen atom transfer* (HAT) yaitu dengan mendonorkan atom hidrogen, dan *single electron transfer* (SET) dengan mentransfer elektron untuk mereduksi metal ion, radikal, dan *carbonyls*. Mekanisme transfer hidrogen dapat mencegah tahap inisiasi peroksidasi lipid dengan bereaksi dengan lipid radikal atau secara langsung menghambat tahap propagasi peroksidasi lipid dengan bereaksi dengan *peroxyl* radikal atau radikal *akoxyl* (Aytul, 2010).

Kedelai merupakan salah satu produk unggulan Universitas Jember diantara 7 produk lainnya yaitu tebu, kopi, dan singkong. Kedelai dapat diproses menjadi beberapa produk olahan seperti susu, tahu, tempe, dan tepung sehingga lebih aplikatif dan mudah dikonsumsi oleh berbagai lapisan masyarakat. Tepung kedelai ternyata memiliki kandungan isoflavon yang lebih tinggi dibandingkan produk olahan kedelai lainnya, yaitu dengan kandungan rata-rata daidzein sebesar 67,69%, genistein 89,42%, dan *glicitein* 20,02% (Bhagwat *et al.*, 2008). Berdasarkan hasil penelitian Khan (2012), pemberian terapi profilaksis dengan diet tepung kedelai dapat mengurangi risiko kerusakan hati akut pada tikus wistar jantan yang diinduksi CCl₄ dengan cara meningkatkan antioksidan intraseluler seperti GSH, menurunkan level pembentukan MDA, menurunkan level SGOT, dan SGPT hati.

Sampai saat ini, belum ada penelitian tentang pengaruh pemberian terapi profilaksis dengan diet tepung kedelai terhadap kadar MDA pada tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon. Oleh karena itu, peneliti akan menguji pengaruh tepung kedelai sebagai hepatoprotektor terhadap peningkatan kadar MDA pada tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah pemberian tepung kedelai (*Glycine max* L.) dapat mencegah peningkatan kadar malondialdehid (MDA) pada tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian tepung kedelai (*Glycine max* L.) sebagai hepatoprotektor terhadap peningkatan kadar malondialdehid (MDA) pada tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon.

1.4 Manfaat Penelitian

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* L.) sebagai hepatoprotektor.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pestisida

2.1.1 Definisi Pestisida

Pestisida adalah zat kimia yang digunakan untuk membasmi organisme yang tidak diinginkan atau tidak dikehendaki keberadaannya, termasuk membasmi serangga (insektisida), membasmi rumput liar (herbisida), membasmi jamur, dan membasmi binatang pengerat (rodentisida). Pestisida merupakan senyawa-senyawa kimia buatan manusia yang digunakan di sekitar rumah untuk mengendalikan tanaman dan hama, serangga, rayap, hewan pengerat, dan jamur. Pestisida dijual dalam bentuk semprot, batang, bubuk, kristal, bola, kabut, bom, dan cairan. Selain menyerang hama yang menjadi sasaran secara aktif, pestisida juga mengandung agen pembawa inaktif yang tidak beracun bagi hama yang menjadi sasaran, tetapi dapat beracun bagi manusia. Kata *sida* berarti untuk membunuh. Ketika dipergunakan di luar ruangan, pestisida sering akan mengontaminasi udara, tanah, dan persediaan air (Sudarmo, 2005).

2.1.2 Penggolongan Pestisida

Menurut Hudayya dan Jayanti (2012), berdasarkan cara kerjanya (*mode of action*), yaitu menurut sifat kimianya, pestisida dibagi menjadi empat 4 golongan besar, yaitu:

- a. Organoklorin merupakan insektisida sintetik yang paling tua yang sering disebut hidrokarbon klor. Secara umum diketahui bahwa keracunan pada serangga ditandai dengan terjadinya gangguan pada sistem saraf pusat yang mengakibatkan terjadinya hiperaktivitas, gemetar, kemudian kejang hingga akhirnya terjadi kerusakan pada saraf dan otot yang menimbulkan kematian. Organoklorin bersifat stabil di lapangan, sehingga residunya sangat sulit terurai. Beberapa contoh jenis pestisida organoklorin antara lain DDT, *lindane*, endosulfan, aldrin, dieldrin, dan *chlordane* (Zacharia, 2012).
- b. Organofosfat merupakan insektisida yang bekerja dengan menghambat enzim asetilkolinesterase, sehingga terjadi penumpukan asetilkolin yang berakibat

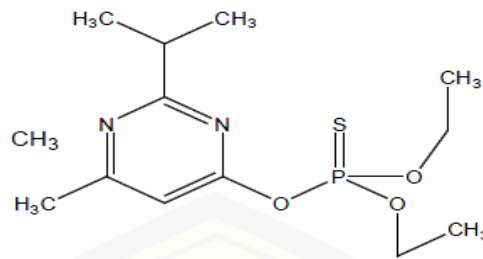
pada terjadinya kekacauan pada sistem pengantar impuls saraf ke sel-sel otot. Keadaan ini menyebabkan impuls tidak dapat diteruskan, otot menjadi kejang, dan akhirnya terjadi kelumpuhan (paralisis) dan akhirnya serangga mati. Beberapa insektisida organofosfat yang banyak digunakan termasuk *parathion*, *malathion*, diazinon, dan *glyphosate* (Zacharia, 2012).

- c. Karbamat merupakan insektisida yang berspektrum luas. Cara kerja karbamat mematikan serangga sama dengan insektisida organofosfat yaitu melalui penghambatan aktivitas enzim asetilkolinesterase pada sistem saraf. Perbedaannya adalah pada karbamat penghambatan enzim bersifat bolak-balik (reversibel) yaitu penghambatan enzim bisa dipulihkan lagi. Karbamat bersifat cepat terurai. Beberapa insektisida yang banyak digunakan dalam golongan karbamat termasuk *carbaryl*, karbofuran, dan *aminocarb* (Zacharia, 2012).
- d. Piretroid merupakan piretrum sintetis, yang mempunyai sifat stabil bila terkena sinar matahari dan relatif murah serta efektif untuk mengendalikan sebagian besar serangga hama. Piretroid mempunyai efek sebagai racun kontak yang kuat, serta mempengaruhi sistem saraf serangga pada periferal (sekeliling) dan sentral (pusat). Piretroid awalnya menstimulasi sel saraf untuk memproduksi secara berlebih dan akhirnya menyebabkan paralisis dan kematian. Beberapa piretroid sintesis yang paling banyak digunakan termasuk *permethrin*, *cypermethrin*, dan *deltamethrin* (Zacharia, 2012).

2.2 Diazinon

2.2.1 Definisi Diazinon

Menurut Christensen *et al.* (2009), diazinon pertama kali terdaftar di Amerika Serikat pada tahun 1956 sebagai insektisida organofosfat, akarisisida, dan nematisida. Diazinon umumnya digunakan pada tanaman buah, padi, tebu, jagung, tembakau, dan tanaman hortikultura karena sangat efektif memberantas dan membasmi hama-hama tanaman seperti kutu daun, lalat, wereng, kumbang penggerek padi, dan sebagainya (Agustina, 2016). Nama dan struktur kimia diazinon dapat dilihat pada Gambar 2.1 dan Tabel 2.1.



Gambar 2.1 Struktur kimia diazinon (*The National Regulation Authority, 2002*)

Tabel 2.1 Nama dan struktur molekul diazinon

Nama IUPAC	Diethoxy-[(2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinyl)oxy]-thioxophosphorane
Nama lain	O,O-Diethyl-O-(2-isopropyl-6-methyl-pyrimidine-4-yl)phosphorothioate
<i>Molecular formula</i>	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS
<i>Molar mass</i>	304,35 g/mol
<i>Appearance</i>	<i>Colorless to dark brown liquid</i>
Data ini didapatkan pada kondisi standar (suhu 25 °C, dengan 100 kPa)	

Sumber: Sumansyah *et al.* (2013)

2.2.2 Sifat Fisik dan Kimia Diazinon

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 C₁₂H₂₁N₂O₃PS 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 (Christensen *et al.*, 2009). Diazinon mempunyai nama dagang Diazinon, *Spectracide*, dan Basudin.

Diazinon merupakan senyawa organofosfat yang tidak persisten di dalam tanah. Diazinon yang diaplikasikan akan hilang dari tanah melalui degradasi secara kimiawi dan biologi. Sekitar 46% dari diazinon yang ditambahkan ke tanah akan hilang dalam 2 minggu. Jika diazinon diaplikasikan ke dalam tanah, tidak akan terikat secara kuat dengan tanah (Christensen *et al.*, 2009).

Menurut Christensen *et al.* (2009), hidrolisis diazinon menjadi lebih lambat pada pH > 6, tetapi cukup signifikan di tanah. Produk utama dari hidrolisis diazinon adalah 2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine. Namun, jika tidak

cukup air pada kondisi asam, produk utamanya adalah *tetraetil dithio* dan *thiopiropofosfat* yang keduanya lebih toksik.

2.2.3 Toksisitas Diazinon

Residu insektisida golongan organofosfat ditemukan pada jenis sayuran cabai dan wortel dengan kandungan profenofos 0,11 mg/kg, deltametrin 7,73 mg/kg, klorpirifos 2,18 mg/kg, tulubenzuron 2,89 mg/kg, dan permetrin 1,80 mg/kg (Soemirat, 2003). Residu pestisida diazinon pada bawang merah dari Alahan Panjang dan Sungai Nanam Kecamatan Lembah Gumati Padang telah melewati nilai BMR yaitu 2,006 mg/kg dan 1,764 mg/kg (Asmita, 2010).

Diazinon merupakan komponen organofosfat yang paling banyak digunakan. Efek sistemik yang timbul pada manusia ataupun pada binatang percobaan yang terpapar, baik secara inhalasi, oral, ataupun melalui kulit, terutama disebabkan oleh penghambatan enzim asetilkolinesterase (AChE) oleh *diazoxon*, senyawa metabolit aktif dari diazinon (Sumansyah *et al.*, 2013). Berdasarkan hasil penelitian Aribowo *et al.* (2016), di desa Umbulsari, Kecamatan Umbulsari, Kabupaten Jember didapatkan 27,27% dari seluruh responden petani jeruk penyemprot pestisida mengalami gejala keracunan akut seperti pusing, mata berair, dan mual-mual.

Penghambatan enzim asetilkolinesterase (AChE) terjadi pada hubungan antara saraf dan otot, serta pada ganglion sinaps. Asetilkolin merupakan suatu neurotransmitter dari impuls saraf pada *post-ganglionik*, serabut saraf parasimpatis, saraf somatomotorik pada otot bergaris, serat saraf *pre-ganglionik* baik parasimpatis dan simpatis serta sinaps-sinaps tertentu pada susunan saraf. Secara normal, asetilkolin dilepaskan melalui perangsangan pada saraf, yang kemudian akan diteruskan dari motor neuron ke otot volunter, misalkan pada bronkus atau jantung. Asetilkolin yang dilepaskan tersebut kemudian akan dihidrolisis menjadi kolin dan asam asetat oleh enzim asetilkolinesterase (Sumansyah *et al.*, 2013).

Sebagai antikolinesterase organofosfat, diazinon menghambat AChE dengan membentuk kompleks fosforilasi yang stabil, sehingga tidak mampu memecah

asetilkolin pada hubungan antara saraf dan otot, serta pada ganglion sinaps, sehingga terjadi penumpukan asetilkolin pada reseptor asetilkolin, yang menyebabkan terjadinya stimulasi yang berlebihan dan berkelanjutan pada serat-serat kolinergik pada parasimpatis *post*-ganglionik, hubungan neuromuskular pada otot skeletal, hiperpolarisasi dan desensitisasi sel-sel pada sistem saraf pusat (Sumansyah *et al.*, 2013).

Menurut Sumansyah *et al.* (2013), reaksi-reaksi yang terjadi dapat digolongkan menjadi:

- a. Perangsangan terhadap parasimpatis *post*-ganglionik, yang berefek pada beberapa organ, antara lain konstriksi pada pupil (miosis), perangsangan terhadap kelenjar (salivasi, lakrimasi, dan rhinitis), muntah, inkontinensia urin, nyeri perut, diare, bronkokonstriksi, bronkospasme, peningkatan sekresi bronkus, vasodilatasi, bradikardia, dan hipotensi.
- b. Efek nikotik, terjadi akibat penimbunan asetilkolin pada hubungan otot skeletal dan simpatis *pre*-ganglionik. Gejala-gejala yang muncul seperti *muscular fasciculations*, kelemahan, midriasis, takikardia, dan hipertensi.
- c. Efek pada sistem saraf pusat terjadi akibat penimbunan asetilkolin pada tingkat kortikal, subkortikal, dan spinal, terutama pada korteks serebral, hipokampus, dan sistem motorik ekstrapiramidal. Gejala-gejalanya seperti depresi pernafasan, cemas, insomnia, nyeri kepala, lemas, gangguan mental, gangguan konsentrasi, apatis, mengantuk, ataksia, tremor, konvulsi, dan koma.
- d. Hambatan aktivitas AChE berhubungan dengan stres oksidatif pada sel darah. Jika antioksidan dalam tubuh tidak mampu menangani radikal bebas yang terbentuk akibat terhambatnya AChE, radikal bebas ini akan merusak sel-sel, dan menyebabkan terjadinya stres oksidatif.
- e. Efek toksik diazinon juga terjadi pada sel hati, dimana diazinon juga meningkatkan pelepasan glukosa ke darah dengan jalan mengaktifkan glikogenolisis dan glukoneogenesis, sehingga menjadi predisposisi terjadinya diabetes mellitus.

2.2.4 Patomekanisme Hepatotoksik Diazinon

Diazinon diubah menjadi metabolit aktif yaitu diazoxon dalam mikrosom hati tikus dengan bantuan katalis oksidator CYP1A1 (Ellison *et al.*, 2012). Diazinon meningkatkan kadar serum alkalin fosfatase, alanin transaminase, aspartat transaminase, *gamma glutamyl transferase*, bilirubin total, kreatinin, dan malondialdehid (Al-Attar *et al.*, 2016).

Diazinon mengandung radikal bebas yang dapat menyebabkan stres oksidatif dan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid (Oksay, 2012). Peroksidasi lipid merupakan reaksi antara radikal bebas maupun oksidan yang menyerang lipid yang mengandung ikatan karbon ganda terutama pada PUFA. Peroksidasi lipid melibatkan pemisahan hidrogen dari rantai karbon yang digantikan oleh oksigen untuk menjadikan *lipid peroxy radicals* dan lipid hidroperoksida (Ayala *et al.*, 2014). PUFA didegradasi oleh radikal-radikal bebas sehingga menghasilkan produk samping yang disebut dengan malondialdehid (MDA). Malondialdehid dapat digunakan untuk mengetahui derajat kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh peroksidasi lipid (Retno *et al.*, 2012).

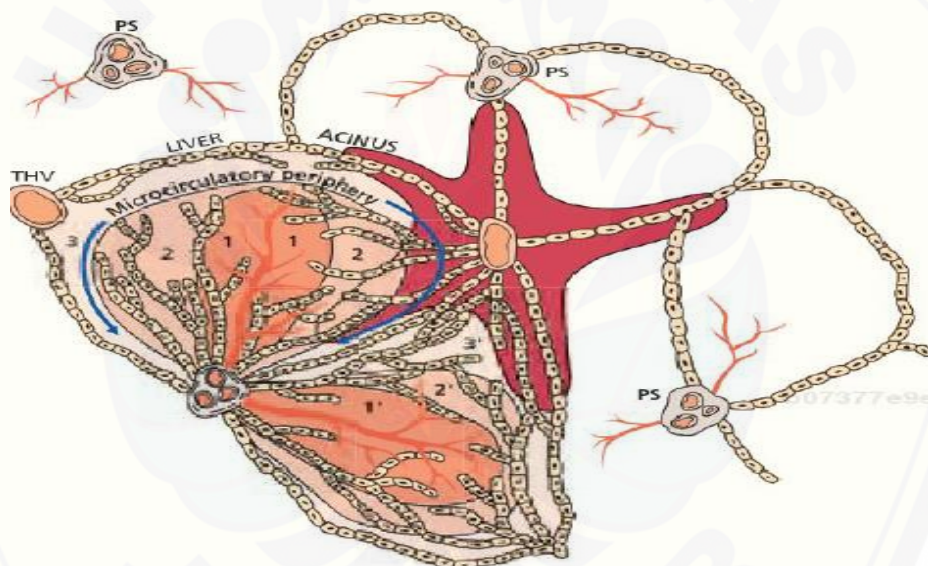
Pada tikus, pemberian diazinon 40, 50, dan 60 mg/KgBB selama 5 hari terbukti menyebabkan kongesti, piknosis, dan nekrosis hati (Ngabekti dan Isnaeni, 2000). Berdasarkan penelitian Fatima *et al.* (2006), didapatkan kerusakan yang cukup signifikan pada sel hati dan metabolisme glukosa pada hati setelah diberikan diazinon secara oral.

2.3 Anatomi dan Fisiologi Hati

Hati merupakan organ yang paling besar yang ada di tubuh, dengan berat sekitar 1200-1500 gram. Beratnya seperlima puluh dari berat tubuh manusia dewasa sedangkan pada bayi beratnya sekitar seperdelapan belas. Hati paling banyak berada pada kuadran kiri. Hati dilindungi oleh *costae* pada bagian atasnya. Hati memiliki dua lobus anatomi yaitu lobus kiri dan kanan. Lobus kanan memiliki berat 6 kali lebih berat daripada lobus kiri. Kedua lobus ini pada bagian anterior dipisahkan oleh lipatan dari peritoneum yang disebut ligamentum

falsiformis sedangkan celah posterior dipisahkan oleh dari ligamentum venosus dan pada celah inferior oleh dari ligamentum teres (Sherlock dan Dolley, 2002).

Hati memiliki dua suplai aliran darah. Vena portal membawa darah vena dari usus dan limpa sedangkan arteri hepatica berasal arteri koeliaka untuk mensuplai darah yang kaya oksigen untuk hati. Pembuluh darah ini masuk melalui celah yaitu porta hepatis yang berada di belakang permukaan inferior dari lobus dekstra. Vena porta dan arteri hepatica terbagi menjadi dua cabang untuk lobus dekstra dan sinistra. Hati dipersarafi oleh pleksus hepatica yang merupakan ganglia simpatis dari T7-T10 yang bersinaps di pleksus koeliaka (Sherlock dan Dolley, 2002). Gambaran histologi hati dapat dilihat pada Gambar 2.2.



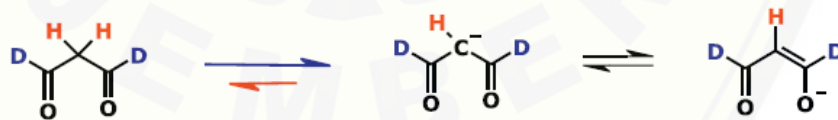
Gambar 2.2 Histologi hati (Sherlock dan Dolley, 2002)

Secara fisiologi, hati memiliki 3 zona yaitu zona 1, 2, dan 3. Zona 1 memiliki kemampuan untuk glukoneogenesis sedangkan zona 3 memiliki fungsi glikolisis. GSH 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 beberapa obat seperti fenobarbital. Oksigenasi pada zona 1 lebih banyak daripada zona 3 (Sherlock dan Dolley, 2002).

Enzim-enzim hati dikenal kemampuannya dalam mendetoksifikasi atau mengekskresi ke dalam empedu berbagai obat-obatan meliputi sulfonamid, penisilin, ampicilin, dan eritromisin ke dalam empedu (Guyton dan Hall, 2014). Hati memiliki fungsi lain yang lebih kompleks. Hati tidak hanya berperan dalam sistem pencernaan dengan kemampuannya untuk mensekresi garam empedu yang membantu penyerapan lemak namun juga dapat berfungsi lain seperti mendetoksifikasi atau menguraikan zat sisa atau obat yang ada dalam tubuh, membentuk protein plasma, menyimpan glikogen dan zat besi, mengaktifkan vitamin D bersama-sama dengan ginjal, merusak sel darah tua yang sudah tidak berfungsi, dan menguraikan sel darah menjadi bilirubin (Sherwood, 2011).

2.4 Malondialdehid (MDA)

Malondialdehid adalah senyawa dialdehid yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid di dalam tubuh. Senyawa ini memiliki tiga rantai karbon, dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$ (Tsikas *et al.*, 2015). Lipid hidroperoksida akan dipecah menjadi gugus aldehid. Malondialdehid merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh oleh radikal bebas sehingga secara luas banyak digunakan sebagai indikator stres oksidatif yang dapat ditentukan secara spesifik maupun non-spesifik dalam suatu pengukuran menggunakan asam (Repetto *et al.*, 2012). Struktur kimia MDA ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur kimia MDA (Tsikas *et al.*, 2015)

Malondialdehid dihasilkan oleh radikal bebas melalui proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan reaksi antara radikal bebas maupun oksidan yang menyerang lipid yang mengandung ikatan karbon ganda yaitu PUFA. Peroksidasi lipid melibatkan pemisahan hidrogen dari rantai karbon yang

digantikan oleh oksigen menjadi *lipid peroxyl radicals* dan lipid hidroperoksida. Radikal hidroksil merupakan radikal bebas paling reaktif yang dengan mudah menempel pada membran sel karena pada membran sel terdapat PUFA yang dapat menginduksi reaksi peroksidasi lipid (Ayala *et al.*, 2014).

Selain MDA, ada hasil lain dari proses peroksidasi lipid yang juga membahayakan bagi sel yaitu propanal, *hexanal*, dan *4-hydroxynoneal* (4HNE). *4-hydroxynoneal* merupakan sitotoksik pada mikrosomal lipid. Lipid peroksida akan menempel pada *free fatty acid*, triasilgliserol, fosfolipid, dan sterol pada membran sel (Ayala *et al.*, 2014). Malondialdehid merupakan senyawa yang mutagenik bagi tubuh dan bisa berikatan lagi dengan PUFA melalui omega-6 dari PUFA sehingga menyebabkan fragmentasi dan membran sel yang terkena menjadi rapuh (Niedernhofer *et al.*, 2003).

Malondialdehid dalam jaringan merupakan senyawa yang dapat menggambarkan aktivitas radikal bebas di dalam sel sehingga dijadikan sebagai salah satu petunjuk terjadinya stres oksidatif akibat radikal bebas dan bersifat lebih spesifik. Semakin tinggi kadar stres oksidatif, maka dapat meningkatkan kadar MDA. Malondialdehid serum digunakan sebagai indikator stres oksidatif seiring meningkatnya radikal bebas dalam darah (Eze *et al.*, 2008).

Keunggulan pemeriksaan MDA dibandingkan produk peroksidasi lipid yang lain adalah signifikan, lebih akurat, stabil daripada senyawa lainnya dan sangat cocok sebagai *biomarker* untuk stres oksidatif karena beberapa alasan yaitu pembentukan MDA sesuai dengan peningkatan stres oksidatif, kadarnya dapat diukur secara akurat dengan berbagai metode yang telah tersedia, bersifat stabil dalam sampel cairan tubuh yang diisolasi, pengukurannya tidak dipengaruhi oleh variasi diurnal dan tidak dipengaruhi oleh kandungan lemak dalam diet, merupakan produk spesifik dari peroksidasi lemak, dan terdapat dalam jumlah yang dapat dideteksi pada semua jaringan tubuh dan cairan biologis (Swastika, 2013).

2.5 Kedelai

2.5.1 Definisi Kedelai

Kedelai dikenal dengan beberapa nama botani, yaitu *Glycine soja* dan *Soja max*. Namun pada tahun 1948 telah disepakati bahwa nama botani yang dapat diterima dalam istilah ilmiah, yaitu *Glycine max* (L.) Merill. Klasifikasi tanaman kedelai sebagai berikut (Gozalli, 2015):

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

Morfologi biji kedelai disajikan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Kedelai (Irwan, 2006)

2.5.2 Kandungan Kedelai

Kedelai merupakan sumber protein, dan lemak, serta sebagai sumber vitamin A, E, K, dan beberapa jenis vitamin B dan mineral K, Fe, Zn, dan P. Kadar protein kacang-kacangan berkisar antara 20-25%, sedangkan pada kedelai mencapai 40%. Kadar protein dalam produk kedelai bervariasi misalnya, tepung kedelai 50%, konsentrat protein kedelai 70%, dan isolat protein kedelai 90% (Winarsi, 2010).

Kandungan protein kedelai cukup tinggi sehingga kedelai termasuk ke dalam lima bahan makanan yang berprotein 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. Vitamin E merupakan vitamin larut lemak atau minyak. Kebutuhan protein kedelai sebesar 55 g per hari dapat dipenuhi dengan makanan yang berasal dari 157,14 g kedelai. Protein kedelai memiliki kandungan asam amino sulfur yang rendah. Metionin, sistein, dan treonin merupakan asam amino sulfur dalam protein kedelai dengan jumlah terbatas (Winarsi, 2010). Komposisi zat gizi dalam 100 gram kedelai ditunjukkan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Komposisi zat gizi dalam 100 gram 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: Aparicio *et al.* (2008)

2.5.3 Antioksidan pada Kedelai

Kedelai mengandung senyawa antinutrien yang dapat menimbulkan efek toksik dan isoflavon yang memiliki efek menguntungkan pada kesehatan. Selain itu, kedelai mengandung protein, lemak, karbohidrat, vitamin, mineral, dan serat. Senyawa antinutrien yang ada dalam kedelai diantaranya lektin, goitrogen, dan beberapa enzim penghambat pencernaan (Fehily, 2003), sedangkan isoflavon dalam kedelai berupa genistein, daidzein, dan *glicitein* (Evans *et al.*, 2011).

Kedelai mengandung isoflavon yang merupakan salah satu senyawa fitokimia (Muchtadi, 2000). Kedelai (*Glycine max* L.) mengandung 4 bentuk senyawa isoflavon yaitu *glucosides* (*daidzingenistin* dan *glycitin*); *acetylglucoides* (*acetyldaidzin*, *acetylgenistin*, dan *acetylglycitin*); *malonylglucoides* (*malonyldaidzin*, *malonylgenistin*, dan *malonylglycitin*); dan *aglycone* tak terkonjugasi (*daidzein*, *genistein*, dan *glycitein*) (Waqas *et al.*, 2015). Kandungan isoflavon pada kedelai berkisar 2-4 mg/g kedelai. Genistein dan daidzein merupakan bentuk isoflavon dalam kedelai dan bentuk glikosidanya adalah genistin dan daidzein. Bentuk glikosida dari isoflavon ini akan terlepas setelah proses hidrolisis oleh enzim usus yaitu glukosidase yang kemudian dimetabolisme lebih lanjut menjadi berbagai jenis metabolit spesifik (Winarti, 2010).

Kedelai merupakan bahan penghasil antioksidan alami, salah satu komponen terpenting dalam kedelai dan bertindak sebagai antioksidan adalah isoflavon. Isoflavon mampu merangsang ekspresi Cu-Zn Sod yang dapat melindungi sel dari serangan stres oksidatif sehingga tidak terbentuk produk peroksidasi lipid yang berkepanjangan (Retno, 2012).

2.6 Tepung Kedelai

2.6.1 Definisi Tepung Kedelai

Tepung kedelai adalah produk setengah jadi yang merupakan bahan dasar industri pangan. Tepung kedelai cukup banyak digunakan sebagai bahan makanan campuran (BMC) dalam formulasi suatu bentuk makanan seperti roti, kue kering, *cake*, sosis, *meat loaves*, donat, dan produk olahan pangan lainnya. Tepung kedelai dapat meningkatkan nilai gizi pada suatu produk pangan (Santoso, 2005).

Tepung kedelai merupakan partikel-partikel kedelai berukuran kecil. Tepung kedelai memiliki banyak kegunaan, di antaranya untuk membuat biskuit, makanan bayi, dan susu kedelai. Terkadang tepung kedelai dikemas sebagai minuman kesehatan yang sering disebut kedelai instan (Warisno dan Dahana, 2010).

2.6.2 Kandungan Tepung Kedelai

Makanan olahan yang terbuat dari kedelai seperti tahu, susu kedelai, tepung kedelai, dan kedelai utuh mengandung isoflavon sebanyak 130-380 mg/gram. Akan tetapi, kecap dan minyak kedelai tidak mengandung isoflavon. Konsentrat kedelai yang biasanya digunakan sebagai bahan tambahan pangan mengandung jumlah isoflavon yang berbeda tergantung pada proses pengolahannya. Bhagwat *et al.* (2008) dalam jurnalnya “*USDA Database for the Isoflavone Content of Selected Foods*” menjelaskan bahwa total kandungan isoflavon pada kedelai yang diproses menjadi tepung ternyata lebih tinggi yaitu 172,55 dibandingkan kedelai mentah (belum diproses) dengan total kandungan isoflavon yaitu 131,53. Berikut ini kadar isoflavon berbagai produk olahan pangan ditunjukkan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Kadar isoflavon total dalam berbagai produk olahan kedelai

No	Produk Olahan Kedelai	Kadar Isoflavon (mg/100 g bdd)
1	<i>Soybean</i>	131,53
2	<i>Soymilk</i>	2,56
3	<i>Sufu</i>	13,75
4	<i>Tempeh</i>	60,61
5	<i>Tofu</i>	16,30
6	<i>Soy flour, full fat, roasted</i>	172,55
7	<i>Crackers</i>	0,01
8	<i>Soy yogurt</i>	33,17
9	<i>Soy sauce</i>	1,18
10	<i>Soy cheese</i>	6,87

Sumber: Bhagwat *et al.* (2008)

Komposisi kimia tepung kedelai dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Komposisi kimia tepung kedelai dalam 100g

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)

Polifenol merupakan senyawa organik dengan satu atau lebih gugus hidroksil dalam cincin aromatiknya. Senyawa fenolik diklasifikasikan menjadi asam fenolik, flavonoid, dan tannin. Asam fenolik terdiri dari dua grup *hydroxybenzoic acid* dan *hydroxycinnamic acids*. Sedangkan flavonoid merupakan fenolik yang paling banyak diteliti. Strukturnya memiliki beberapa gugus hidroksil dengan dua cincin karbon. Secara umum flavonoid memiliki struktur karbon yang memiliki dua cincin benzena yang dihubungkan dengan oksigen heterosiklik (Aytul, 2010).

Flavonoid dibagi menjadi dua yaitu antosianin dan *antoxantin*. *Antoxantin* lebih tidak berwarna sedangkan antosianin lebih memiliki pigmen warna seperti merah, biru, maupun ungu. Flavonoid memiliki beberapa subgrup yaitu flavon (apigenin, luteolin), flavonol (*quercetin*, kaempferol dan *myricetin*), dan isoflavon (genistein, daidzein). Tanin memiliki dua klasifikasi utama yaitu *hydrolyzable tannins* yang memiliki pusat *polyhidric alcohol* seperti glukosa dan gugus hidroksil contohnya *gallic acid* (gallotannins) atau *ellagic acid* (ellagitannins). *Condensed tannins* merupakan turunan dari flavonol seperti katekin dan epikatekin (Aytul, 2010).

Eugenol, karvakol, *sequesterene*, apigenin, *isothymusin*, *rosameric acid*, *cirsilineol*, orietin, dan *viscenin* merupakan senyawa fenolik yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Senyawa ini bekerja melalui beberapa mekanisme, yang pertama sebagai *hydrogen atom transfer* (HAT) yaitu dengan mendonorkan atom hidrogen, dan *single electron transfer* (SET) dengan mentransfer elektron untuk mereduksi metal ion, radikal, dan *carbonyls*. Mekanisme transfer hidrogen dapat mencegah tahap inisiasi peroksidasi lipid dengan bereaksi dengan lipid radikal atau secara langsung menghambat tahap propagasi peroksidasi lipid dengan bereaksi dengan *peroxyl* radikal atau radikal *alkoxyl* (Aytul, 2010). Tahapan reaksi peroksidasi lipid dan antioksidan ditunjukkan pada Tabel 2.5.

Tabel 2.5 Tahapan peroksidasi lipid dan antioksidan

Tahapan	Reaksi	Reaksi oleh antioksidan
Inisiasi	$LH + R\cdot \rightarrow L\cdot + RH$	$L\cdot + AH \rightarrow LH + A\cdot$ (SET)
Propagasi	$L\cdot + O_2 \rightarrow LOO\cdot$ $LOO\cdot + LH \rightarrow L\cdot + LOOH$	$LOO\cdot + A\cdot \rightarrow LOOA$ (HAT) $LOO\cdot + AH \rightarrow A\cdot + LOOH$ (SET)
Terminasi	$LO\cdot + LO\cdot \rightarrow$ produk non radikal $LOO\cdot + LOO\cdot \rightarrow$ produk non radikal $LO\cdot + LOO\cdot \rightarrow$ produk non radikal	-

Sumber: (Aytul, 2010)

Antioksidan dapat digunakan untuk mencegah terjadinya proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan, seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lainnya (Tamat *et al.*, 2007). Antioksidan sangat penting sebagai inhibitor peroksidasi lipid sehingga bisa digunakan untuk mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada bahan pangan. Peroksidasi lipid merupakan reaksi kimia yang sering terjadi pada bahan pangan yang memproduksi asam, aroma tak sedap dan toksik selama proses pengolahan dan penyimpanan sehingga mempengaruhi mutu dan keamanan produk pangan (Heo *et al.*, 2010).

2.6.3 Metode Penepungan

Penepungan adalah suatu proses penghancuran bahan pangan yang didahului proses pengeringan menjadi butiran-butiran yang sangat halus, kering dan tahan lama serta fleksibel (Asmarajati, 1999). Tepung merupakan salah satu bentuk alternatif produk setengah jadi yang dianjurkan, karena lebih tahan simpan, mudah dicampur (sebagai bahan komposit), dan lebih cepat dimasak sesuai tuntutan kehidupan modern yang serba praktis (Damarjati *et al.*, 2000).

Dalam pembuatan tepung kedelai, proses pemanasan (perebusan, pengukusan atau penyangraian) merupakan tahap yang penting. Pemanasan ini berakibat antitripsin dan enzim lipoksigenase menjadi tidak aktif, hingga tepungnya bergizi tinggi dan tidak berbau langu (Koswara, 2009).

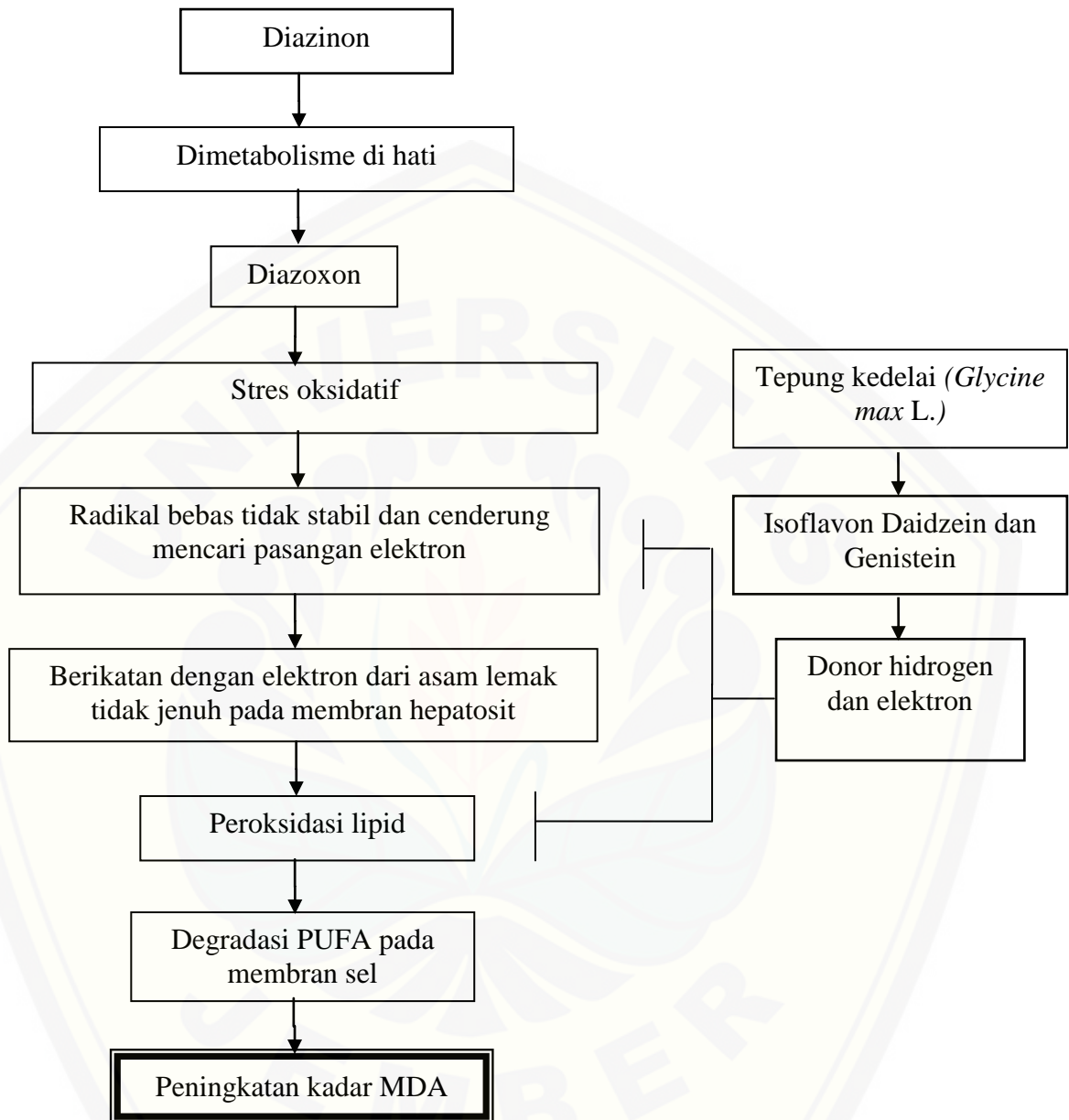
Secara umum terdapat dua jenis metode penepungan yang sering diterapkan dalam produksi tepung yaitu metode basah dan kering. Pada metode basah proses penepungan dilakukan tahap perendaman bahan terlebih dahulu sebelum ditepungkan, sedangkan pada metode kering tidak dilakukan tahap perendaman (Suardi *et al.*, 2002). Diantara dua metode tersebut metode basah merupakan metode yang lebih aplikatif di masyarakat sedangkan metode kering lebih sering digunakan dalam pembuatan tepung skala besar (Suprpto, 1998).

Pembuatan tepung kedelai menurut Gozalli (2015), hal yang dilakukan yaitu:

- a. Penyortiran biji kedelai yang akan digunakan pada pembuatan tepung kedelai. Proses ini untuk mendapatkan biji kedelai baik sehingga tepung yang dihasilkan akan memiliki kualitas yang baik pula.
- b. 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. Perendaman dilakukan untuk memudahkan pengelupasan biji.
- c. Pencucian biji kedelai sambil diremas-remas agar kulit bijinya terlepas.
- d. Setelah itu, dilakukan perebusan selama 5 menit.
- e. Biji kedelai dijemur hingga kering selama 2-3 hari pada panas matahari penuh. Selama penjemuran biji kedelai sering dibolak-balik agar kering sempurna. Pengeringan juga dapat dilakukan dengan menggunakan panas matahari selama 4 jam dan pengovenan pada suhu 50 °C selama 24 jam.
- f. Penggilingan biji kedelai hingga halus.
- g. Pengayakan menggunakan saringan 80 mesh dengan pengulangan dua kali agar diperoleh tepung kedelai yang lebih optimal. Hasil penyaringan berupa tepung kedelai yang siap digunakan dan kemas tepung kedelai agar tidak menyerap uap air.

Secara umum pembuatan tepung kedelai dimulai dengan cara merendam biji kedelai yang telah kering dalam air tanpa pemanasan. Biji kedelai yang telah direndam kemudian ditiriskan dan digiling halus sampai menjadi tepung kedelai, kemudian dikeringkan hingga diperoleh kadar air yang rendah (Ngantung, 2003).

2.7 Kerangka Konseptual Penelitian



Gambar 2.5 Kerangka konsep

Keterangan:

- | : Menghambat
- : Memicu
- ▭ : Variabel diteliti

Diazinon merupakan pestisida golongan organofosfat. Diazinon akan diubah menjadi metabolit aktif yaitu diazoxon dalam mikrosom hati tikus dengan bantuan katalis oksidator CYP1A1. Diazoxon merupakan bahan toksik yang ada di hati dan dapat menyebabkan reaksi stres oksidatif sehingga menginduksi terjadinya proses peroksidasi lipid.

Peroksidasi lipid adalah reaksi yang terjadi akibat radikal bebas menyerang lipid yang mengandung ikatan karbon ganda (PUFA). Proses ini akan menghasilkan suatu senyawa yaitu malondialdehid (MDA) yang berbahaya bagi sel jika tidak dimetabolisme menjadi zat yang tidak berbahaya bagi tubuh. PUFA akan mengalami fragmentasi sehingga membran sel hati menjadi hancur. 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 sehingga mencegah terjadinya peningkatan kadar MDA dalam hati.

2.8 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah maka hipotesis penelitian ini adalah pemberian tepung kedelai (*Glycine max* L.) dapat mencegah peningkatan kadar MDA sel hati tikus yang diinduksi diazinon.

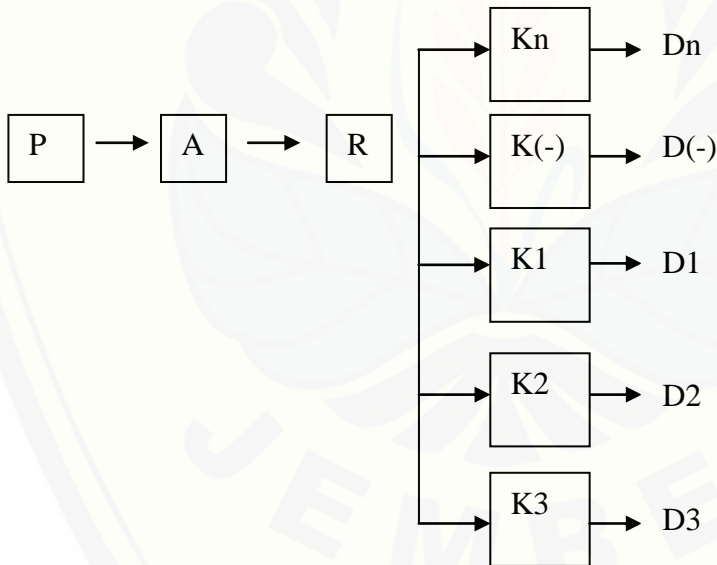
BAB 3. METODE PENELITIAN

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 *posttest* 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.



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

Keterangan :

P : Populasi

A : Adaptasi hewan coba selama 7 hari

R : Randomisasi

Kn : Kelompok kontrol normal

K(-) : Kelompok kontrol negatif; Induksi diazinon 40 mg/kgBB pada hari ke-36 selama 5 hari.

K1 : Kelompok perlakuan; Pemberian tepung kedelai 10% dan diazinon 40 mg/kgBB

K2 : Kelompok perlakuan; Pemberian tepung kedelai 15% dan diazinon 40 mg/kgBB

K3 : Kelompok perlakuan; Pemberian tepung kedelai 20% dan diazinon 40 mg/kgBB

Dn : Kadar MDA hati Kn

D(-) : Kadar MDA hati K(-)

D1 : Kadar MDA hati K1

D2 : Kadar MDA hati K2

D3 : Kadar MDA hati K3

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

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. Kriteria inklusi sampel penelitian meliputi:

1. Tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*);
2. Tikus sehat (bergerak aktif);
3. Usia \pm 3 bulan dengan berat 150-300 g.

Sedangkan kriteria eksklusi meliputi:

1. Tikus yang sakit terutama dengan gejala hepatitis (mual, muntah, dan tidak mau makan);
2. Tikus mati.

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 tiga tempat, yaitu di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan tikus, Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Penelitian Fakultas Teknik Pertanian Universitas Jember untuk pembuatan tepung kedelai, dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeriksaan MDA 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* L.) pada tikus.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar malondialdehid (MDA) hati tikus.

3.5.3 Variabel Terkendali:

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah:

1. Usia hewan coba
2. Jenis kelamin tikus
3. Berat badan tikus
4. Pemeliharaan dan perlakuan tikus
5. Waktu dan lama perlakuan tikus
6. Dosis dan frekuensi pemberian diazinon

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Tepung Kedelai (*Glycine max* L.)

Tepung kedelai adalah hasil pengolahan kedelai yang dikeringkan dan diproses hingga menjadi bentuk tepung yang diperoleh dari Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Kedelai yang digunakan adalah jenis kedelai lokal (*Glycine max* L.) yang diperoleh dari Pasar Tanjung, Jember. Metode yang digunakan dalam pembuatan tepung kedelai yaitu 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 dalam akuades dan diberikan pada tikus secara peroral (*force feeding*) dengan teknik sonde.

3.6.2 Kadar MDA hati

Produk akhir dari peroksidasi lipid terutama asam lemak tidak jenuh pada membran hepatosit yang dihasilkan melalui oksidasi oleh radikal bebas yaitu diazoxon akibat induksi diazinon. MDA yang diukur adalah MDA organ hati karena hasilnya yang lebih spesifik dibandingkan kadar MDA di serum. Kadar MDA diukur dengan metode TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substance*) untuk mengukur peroksidasi yang terjadi pada membran lipid dengan spektrofotometer dan dinyatakan melalui nmol/dL.

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. Diazinon yang digunakan dalam bentuk cairan 600 g/L yang diproduksi oleh PT. Petrokimia Kayaku Gresik dan didapatkan di toko pertanian Pasar Tanjung, Jember. Diazinon 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, timbangan, oven, ember plastik, mesin penepung, kantong plastik, dan loyang persegi.
- 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 mengukur kadar MDA hati adalah spektrofotometer, tabung reaksi, *vortex*, rak, mikropipet, eppendorf, kuvet, *sentrifuge*, *blue tip*, dan *yellow tip*.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah

- a. Bahan untuk pemeliharaan tikus adalah makanan pelet, air, dan sekam.
- b. Bahan untuk tepung kedelai adalah kedelai lokal.
- c. Bahan untuk menyonde adalah diazinon, tepung kedelai, akuades, *corn oil*, dan normal salin.
- d. Bahan untuk mengukur kadar MDA hati adalah larutan PBS, NaCl 0,9% , TCA 100%, HCl 1 N, Na Thio dan hati tikus.

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 diharapkan akan menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba, melindungi hewan coba, serta memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti.

3.8.2 Pemilihan Hewan Coba

Jumlah hewan coba adalah 25 ekor tikus wistar (*Rattus norvegicus*) dibagi menjadi 5 kelompok secara randomisasi dengan kriteria tikus wistar jantan, tikus sehat (bergerak aktif), dan usia \pm 3 bulan dengan berat badan 150-300 gram.

3.8.3 Adaptasi 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 pelet dan air yang diberikan secara *ad libitum* pada semua kandang.

3.8.4 Pembagian Kelompok Perlakuan

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.

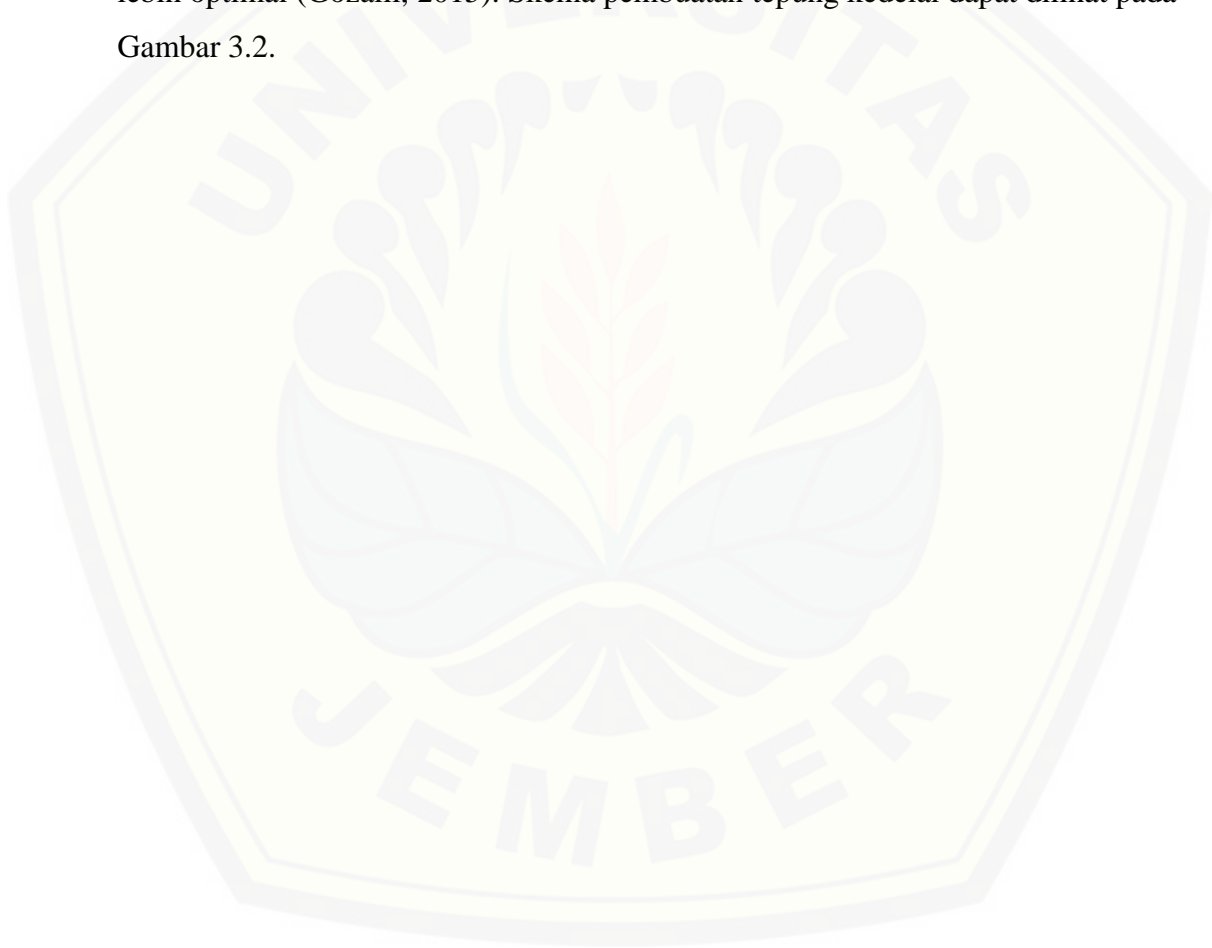
Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan

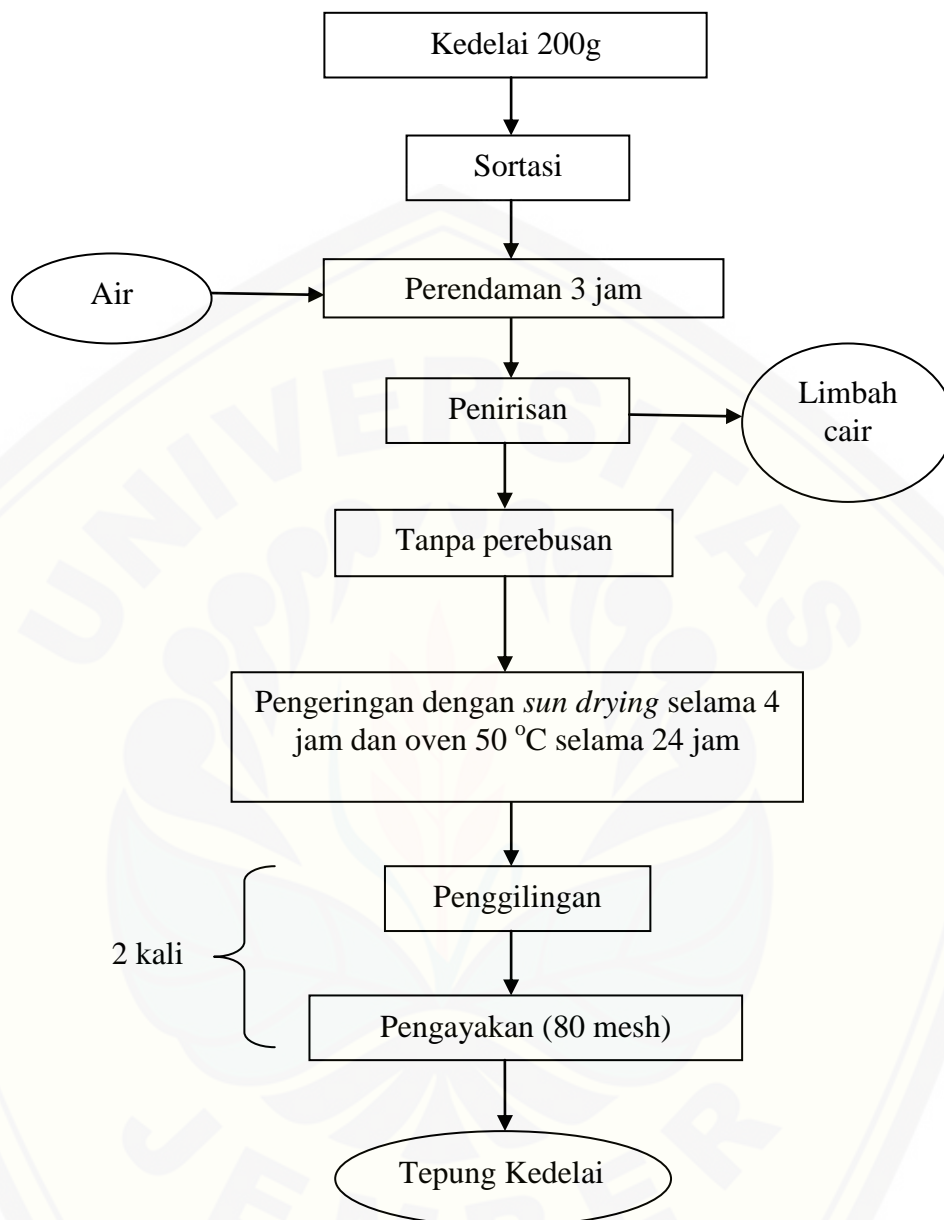
Nama Kelompok	Perlakuan yang Diberikan
Kelompok Kn	Pemberian normal salin pada hewan coba
Kelompok K(-)	Induksi diazinon 40 mg/kgBB per oral pada hari ke-36 selama 5 hari
Kelompok K1	Pemberian tepung kedelai 10% per oral pada hari ke-8 selama 28 hari, dan induksi diazinon 40 mg/kgBB pada hari ke-36 selama 5 hari
Kelompok K2	Pemberian tepung kedelai 15% per oral pada hari ke-8 selama 28 hari, dan induksi diazinon 40 mg/kgBB pada hari ke-36 selama 5 hari
Kelompok K3	Pemberian tepung kedelai 20% per oral pada hari ke-8 selama 28 hari, dan induksi diazinon 40 mg/kgBB pada hari ke-36 selama 5 hari

3.8.5 Pembuatan Tepung Kedelai (*Glycine max* L.)

Pembuatan tepung kedelai dilakukan 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 kedelai ditiriskan. 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 (Gozalli, 2015). Skema pembuatan tepung kedelai dapat dilihat pada Gambar 3.2.





Gambar 3.2 Skema pembuatan tepung kedelai

3.8.6 Pemberian Tepung Kedelai (*Glycine max L.*)

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

3.8.7 Penginduksian Diazinon

Pada penelitian Ngabekti dan Isnaeni (2000) pemberian diazinon 40, 50, dan 60 mg/KgBB pada tikus selama 5 hari terbukti menyebabkan kongesti, piknosis, dan nekrosis. Diazinon dilarutkan dalam *corn oil* untuk mendapatkan dosis yang diinginkan. Menurut penelitian Moshiri (2013), diazinon memiliki kelarutan yang tinggi dalam lemak dan kelarutannya rendah dalam air, sehingga perlu dilarutkan dalam *corn oil* untuk mendapatkan dosis induksi yang diinginkan.

3.8.8 Terminasi Hewan Coba

Setelah perlakuan selesai dilakukan selama 33 hari, tikus diterminasi sesuai dengan cara yang diatur dalam kode etik penggunaan hewan coba yaitu dianestesi dengan menggunakan eter. Setelah itu, tikus dibedah dan diambil organ hatinya (Husnayain, 2014).

3.8.9 Pemeriksaan Kadar MDA Hati

Pengukuran kadar MDA pada hati tikus dilakukan menggunakan pereaksi TBA yang akan membentuk produk MDA-TBA berwarna merah muda dan diukur menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Organ hati diambil dan dipotong kecil-kecil lalu dicuci dengan menggunakan PBS. Organ hati yang sudah bersih ditimbang sebanyak 1 gram dan digerus dalam mortar di atas balok es kemudian ditambahkan NaCl 0,9% dingin. Dari masing-masing kelompok setelah dilakukan

pembuatan *homogenat*, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 20 menit, supernatan diambil, dan dipindahkan dalam *microtube* (Shofia, 2015).

Sebanyak 100 μL supernatan hati ditambahkan 550 μL akuades steril, 100 μL TCA, 250 μL HCl 1 M, dan 100 μL Na-Thiobarbiturat. Pada setiap penambahan 2 pereaksi, dihomogenkan menggunakan *vortex*. Homogenat dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 100 °C selama 20 menit, diangkat, dan dibiarkan dingin pada suhu ruang. Selanjutnya, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil, dan dipindahkan dalam *microtube* baru. Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 533 nm (Shofia, 2015).

Pembuatan kurva standar dengan menggunakan MDA stok kit dengan konsentrasi 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang ditambahkan 550 μL akuades steril, 100 μL TCA, 250 μL HCl 1 M, dan 100 μL Na-Thiobarbiturat. Pada setiap penambahan 2 pereaksi, dihomogenkan menggunakan *vortex*. Homogenat dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 100 °C selama 20 menit, diangkat, dan dibiarkan dingin pada suhu ruang. Selanjutnya, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil, dan dipindahkan dalam *microtube* baru. Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 533 nm (Shofia, 2015). Nilai hasil absorbansi sampel akan dimasukkan ke dalam formula kurva standar dan dihasilkan nilai akhir MDA dalam satuan nmol/dL.

3.9 Analisis Data

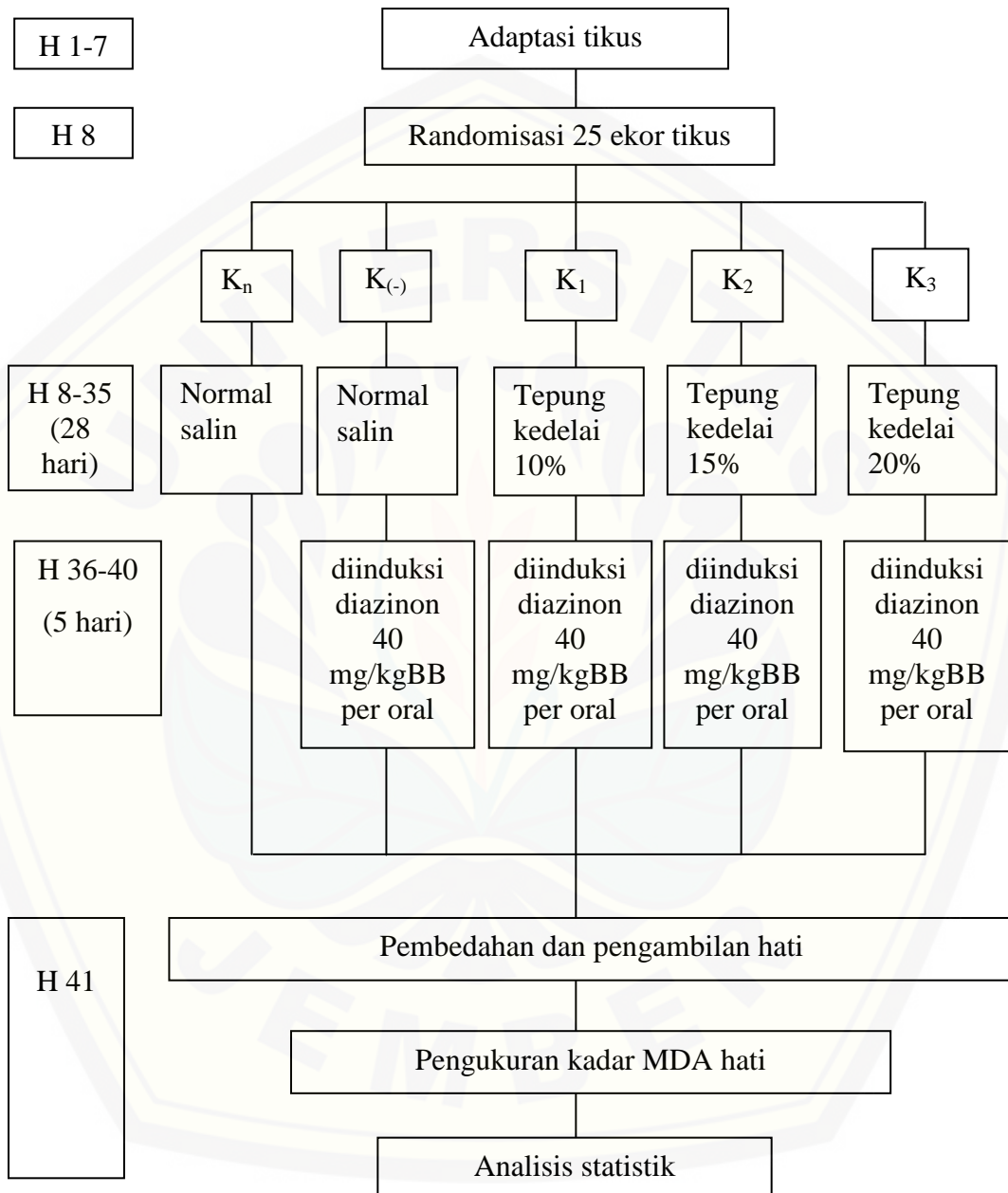
Setelah penelitian didapatkan kelompok data, seluruh data dilakukan komparasi kemudian dianalisis secara komputerisasi dan dibantu dengan perangkat lunak berupa program statistik. Sebelum dilakukan uji tersebut, dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel <50 dan uji *Lavene* untuk mengetahui homogenitas. Apabila data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* ($p < 0,05$), namun jika 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 uji *Post-Hoc* untuk mengetahui kelompok yang berbeda signifikan.



3.10 Alur Penelitian

Skema perlakuan terhadap hewan coba pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah pemberian tepung kedelai dapat mencegah peningkatan kadar MDA hati tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon.

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 agen hepatotoksik lainnya.
2. Perlu adanya penelitian dengan durasi yang lebih lama untuk mengetahui efek tepung kedelai pada paparan diazinon kronis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abass, K., M. Turpeinen, A. Rautio, J. Hakkola, dan O. Pelkonen. 2012. Metabolism of pesticides by human cytochrome p450 enzymes in vitro a survey. *Insecticides advances in integrated pest management*. 8(1): 165–194.
- Agustina, N. 2016. Diazinon. *Makalah*. Jakarta, 30 Mei 2016. 7 hlm.
- Al-Attar, A. M., M. Elnaggar, dan E. Almalki. 2016. Protective effect of some plants oils on diazinon induced hepatorenal toxicity in male rats. *Saudi Journal of Biological Science*. 24(1): 15-22.
- Andrade, G. F., C. de Almeida, A. Espechit, M. Dantas, L. Benjamin, S. Ribeiro, dan H. Martino. 2013. The addition of soyflour to cafeteria diet reduces metabolic risk markers in wistar rats. *Lipids Health Dis*. 12(1): 145-174.
- Anosike, C. A., O. Obidoa, dan L. U. S. Ezeanyika. 2008. Beneficial effects of soybean diet on serum marker enzymes, lipid profile, and relative organ weights of wistar rats. *Journal of Nutrition*. 7(6): 817-822.
- Aparicio, M., C. Redondo, S. Villanueva, dan R. Zapata. Soybean, a promising health source. *Nutr Hosp*. 23(4): 305-312.
- Aribowo, F. P., A. Sujoso, dan R. Hartanti. 2016. Faktor yang berhubungan dengan gejala keracunan akut pestisida organofosfat pada petani jeruk (studi di desa umbulsari kecamatan umbulsari kabupaten Jember).
- Asmarajati, T. 1999. Pengaruh Blanching dan Suplementasi Bekatul terhadap Kualitas Cookies. *Skripsi*. Purwokerto: Fakultas Pertanian Universitas Jendral Soedirman.
- Asmita, N. 2010. Dampak Penggunaan Pestisida terhadap Keanekaragaman Arthropoda dan Residunya pada Tanaman Bawang Merah (*Allium cepa* var. *Ascolonicum*) di Kecamatan Lembah Gumanti, Sumatera Barat. *Skripsi*. Padang: Fakultas Pertanian Universitas Andalas.
- Ayala, A., M. 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(2): 1-31.
- Aytul, K. K. 2010. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Olive Leaf Extract And its Food Applications. *Tesis*. Turki: graduate school of engineering and sciences of Izmir institute of technology.

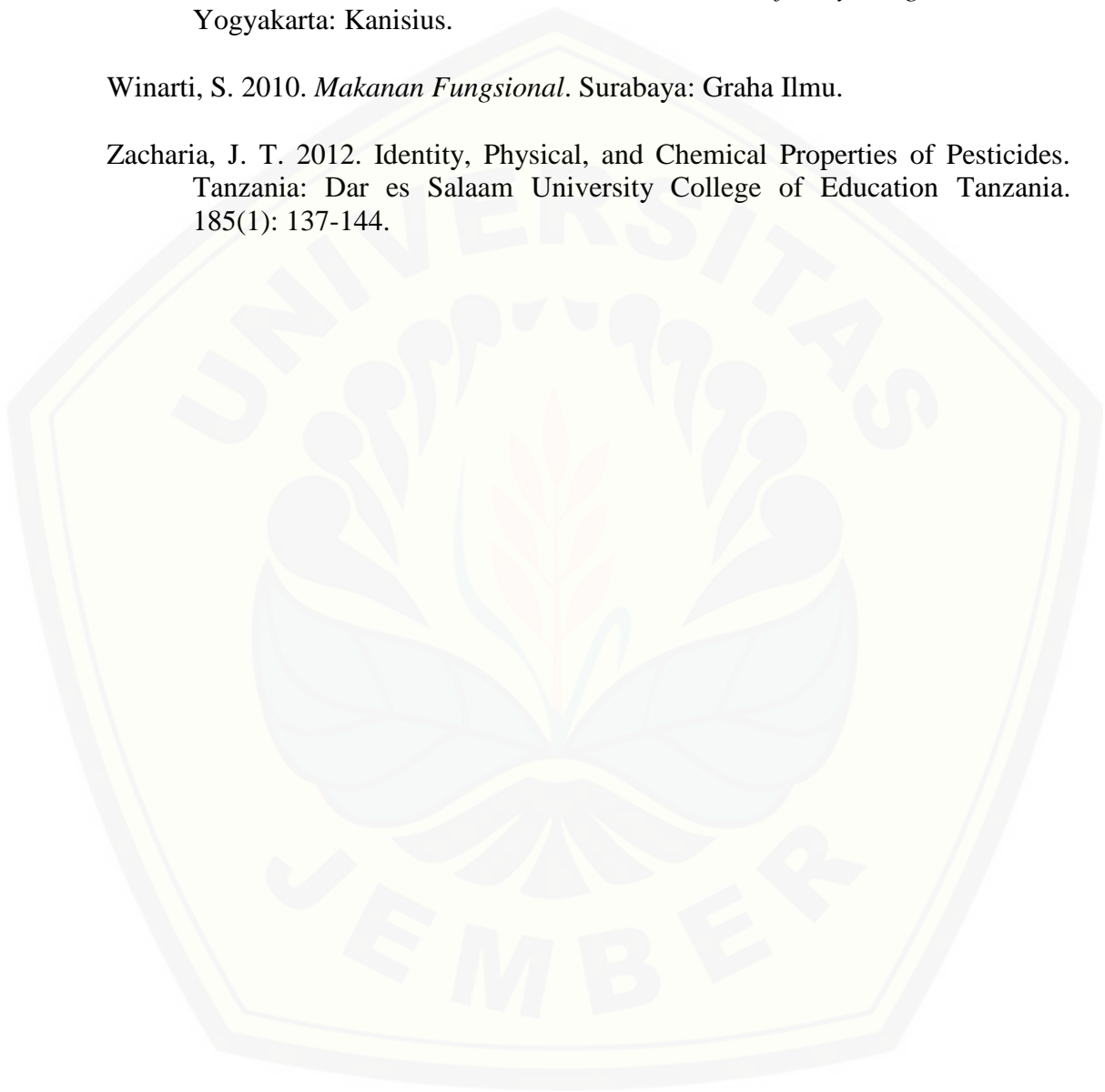
- Bhagwat, S., D. Haytowitz, dan J. Holden. 2008. USDA database for the isoflavone content of selected foods. Release 2.0. U. S. *Departement of Agriculture. Agricultural Research Service.*
- Christensen, K., B. Harper, B. Luukinen, K. Buhl, dan D. Stone. 2009. Chlorpyrifos General Fact Sheet; National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services.
<http://npic.orst.edu/factsheets/chlorpotech.pdf>
- Damardjati, D. S., S. Widowati, J. Wargiono, dan S. Purba. 2000. Potensi dan Pendayagunaan Sumber Daya Bahan Pangan Lokal Serealia, Umbi-umbian, dan Kacang-kacangan untuk Penganekaragaman Pangan. *Makalah pada Lokakarya Pengembangan Pangan Alternatif.* Jakarta, 24 Oktober 2000. 24 hlm.
- Ebuehi, O. A. T., dan H. Okafor. 2016. Defatted soya flour supplementation of wheat bread confers oxidative, renal, hepatic, and cardiovascular protective effects in wistar rats. *International Journal of Biochemistry Research & Review.* 10(1): 1-14.
- Ellison, C. A., Y. Tian, J. Knaak, P. Kostyniak, dan J. Olson. 2012. Human hepatic cytochrome p450-specific metabolism of the organophosphorus pesticides methyl parathion and diazinon. *Drug Metabolism Dispos.* 40(1): 1-5.
- Evans, M., J. Elliott, P. Sharma, R. Berman, dan N. Guthrie. 2011. The effect of synthetic genistein on menopause symptom management in healthy postmenopausal women: A multi-center, randomized, placebo-controlled study. *Maturitas.* 68(1): 189-196.
- Eze, J. I., B. Anene, dan C. Chukwu. 2008. Determination of serum and organ malondialdehyde (MDA) concentration, a lipid peroxidation index, in *Trypanosoma brucei*-infected rats. *Comparative Clinical Pathology.* 17(2): 67-72.
- Fatima T.A., N. Hadi, dan A. Mohammed. 2006. Alterations of hepatic cells glucose metabolism as a non-cholinergic detoxication mechanisms in counteracting diazinon induced oxidative stress. *Hum. Exp. Toxicol.* 25(1): 697-703.
- Fehily, A. M. 2003. Dietary Importance, SOY (SOYA) BEANS/Dietary Importance. *Elsevier Science Ltd.*
- Gozalli, Muhammad. 2015. Karakteristik Tepung Kedelai dari Jenis Impor dan Lokal (Varietas Anjasmoro dan Baluran) dengan Perlakuan Perebusan dan

- tanpa Perebusan. *Skripsi*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Guyton, A. C. dan J. Hall. 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 12. Jakarta: EGC.
- Heo, J. M., N. Livnat-Levanon, E. Taylor, K. Jones, N. Dephoure, J. Ring, J. Xie, J. Brodsky, F. Madeo, S. Gygi, K. Ashrafi, M. Glickman, dan J. Rutter. 2010. A stress-responsive system for mitochondrial protein degradation. *Mol Cell*. 40(3):465-80.
- Hudayya, A., dan H. Jayanti. 2012. *Pengelompokan Pestisida Berdasarkan Cara Kerja (Mode of Action)*. Bandung: Yayasan Bina Tani Sejahtera.
- Husnayain, K. I. 2014. Pengaruh ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L) terhadap kadar glutation jaringan hati tikus (*Rattus norvegicus* L.) yang diinduksi 7,12 dimethylbenz(a)anthracene (dmba). *Skripsi Digilib Unila*. 29-40.
- Irwan, A. 2006. Budidaya Tanaman Kedelai (*Glycine max* L.) *Skripsi*. Jatinagor: Fakultas Pertanian Universitas Padjajaran.
- Kaur, G., A. Jain, dan S. Singh. 2017. CYP/PON genetic variations as determinant of organophosphate pesticides toxicity. *Centre for Environmental Science and Technology*. 96(1):187-201.
- Khan, T. H. 2012. Soy diet diminish oxidative injure and early promotional events induced by CCL₄ in rat liver. *International Journal of Pharmacology*. 1(2): 30-38.
- Komisi Pestisida. 2014. Pedoman Teknis Kajian Pestisida Terdaftar dan Beredar TA. 2014. Direktorat Jendral Prasarana dan Sarana Pertanian.
- Koswara, S. 2009. Teknologi Pengolahan Kedelai (Teori dan Praktek). *Ebook Pangan*.
- Lari, P., M. Rashedinia, K. Abnous, dan H. Hosseinzadeh. 2013. Evaluation of diazinon-induced hepatotoxicity and protective effects of crocin. *Toxicology and Industrial Health*. 31(4): 367-376.
- Moshiri, M., M. Vahabzadeh, L. Etemad, dan H. Hosseinzadeh. 2013. Failure of intravenous lipid emulsion to reduce diazinon-induced acute toxicity: a pilot study in rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 4(1): 897-902.

- Muchtadi, H. 2000. *Sayur-sayuran. Sumber serat dan Antioksidan : Mencegah penyakit Degeneratif*. Bogor: Jurusan Teknologi Pangan & Gizi. FATETA IPB.
- Ngabekti, S., dan W. Isnaeni. 2000. Pemanfaatan kurkumin untuk mengeliminir pengaruh diazinon terhadap kerusakan hati mencit (*Mus musculus L.*). *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. 1(7): 24-34.
- Ngantung, M. 2003. Pengaruh penambahan tepung kedelai pada tepung terigu terhadap nilai gizi mie basah yang dihasilkan. *J. Sains & Teknologi*. 3(1): 110-118.
- Niedernhofer, L. J., J. Daniels, C. Rouzer, R. Greene, dan L. Marnett. 2003. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *The Journal Of Biological Chemistry*. 278(33): 31426-31433.
- Oksay, T., M. Naziroglu, O. Ergun, S. Dogan, O. Zatik, A. Armagan, A. Ozorak, dan O. Elik. 2012. N-acetyl cysteine attenuates diazinon exposure-induced oxidative stress in rat testis. *Article in Andrologia*. 45(3): 145-216.
- Ozcan, T., A. Bayizit, L. Ersan, dan B. Delikanli. Phenolics in human health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 5(5): 393-396.
- Repetto, M., J. Semprine, dan A. Boveris. 2012. Lipid peroxidation: chemical mechanism, biological implications and analytical determination. *Intech Journal*. 1(2): 54-59.
- Retno, T., S. Widyastuti, dan N. Suarsana. 2012. Pengaruh pemberian isoflavon terhadap peroksidasi lipid pada hati tikus normal. *Indonesia Medicus Veterinus*. 1(4) : 483 – 491.
- Santoso. 2005. Teknologi Pengolahan Kedelai Teori dan Praktek. <http://labfpuwg.files.wordpress.com/2010/02/teknologipengolahan-kedelai-teori-danpraktek.pdf>. Viewed on June 19th 2017.
- Sertovic, E., I. Mujic, S. Jokic, V. Alibabic, dan Z. Saric 2012. Effect of soybean cultivars on the content of isoflavones in soymilk. *Biotechnological Letters*.17(3): 7151-7152.
- Sherlock, S., dan J. Dooley. 2002. *Diseases of the Liver and Biliary System Eleventh edition*: Blackwell Science.
- Sherwood, L. 2011. *Fisiologi Manusia*. Jakarta: EGC.

- Shofia, V. 2015. Studi *In Silico*, *In Vitro* dan *In Vivo* Potensi Ekstrak Metanol Kerang Mas Ngur (*Ataotodea strilata*) terhadap Profil Malondialdehida, Aktivitas protease, Ekspresi Ooccludin dan Histopatologi Jejenum Tikus *Rattus norvegicus* yang Dipapar Indometasin. *Tesis*. Malang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.
- Soemirat, J. 2003. *Toksikologi Lingkungan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Suardi, Suarni, dan A. Prabowo. 2002. Teknologi sederhana prosesing sorgum sebagai bahan pangan. Prosiding *Seminar Nasional Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Selatan*. Hlm. 112-116
- Sudarmo, U. 2005. *Pestisida*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sumansyah, F. A., W. Husain, W. Dhana, I. Yekti, dan I. Eka. 2013. Intoksikasi Diazinon. *Referat*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Suprpto, H. S. 1998. *Bertanam Jagung*. Depok: Penebar Swadaya.
- Swastika, A. P. A. 2013. Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Pada Abortus Inkomplit Lebih Tinggi Dibandingkan Dengan Kehamilan Normal. *Tesis*. Denpasar: Program Studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Udayana.
- Tamat, S. R., T. Wikanta, dan L. Maulina. 2007. Aktivitas antioksidan dan toksisitas senyawa bioaktif dari ekstrak rumput laut hijau *Ulva reticulata* Forsskal. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 5(1) : 31-36.
- The National Regulation Authority. 2002. *Physical and Chemical Properties of the Pure Active Constituent, a Review of Diazinon*. Australia.
- Tsikas, D., S. Rothmanna, J. Schneidera, M. Suchya, A. Trettina, D. Modunb, N. Stukec, N. Maassenc, dan J. Frölich. 2015. Development, validation and biomedical applications of stable-isotope dilution GC-MS and GC-MS/MS techniques for circulating malondialdehyde (MDA) after pentafluorobenzyl bromide derivatization: MDA as a biomarker of oxidative stress and its relation to 15(S)-8-iso-prostaglandin F₂ and nitric oxide (•NO). *Journal of Chromatography*. 10(19): 95-98.
- Waqas, M. K., N. Akhtar, R. Mustafa, M. Jamshaid, H. Khan, dan G. Murtaza. 2015. Dermatological and cosmeceutical benefits of *Glycine max* (soybean) and its active components. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*. 72(1): 3-11.
- Warisno, dan K. Dahana. 2010. *Meraup Untung dari Olahan Kedelai*. Jakarta (ID): Agro Media.

- 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.
- Winarno, F. G., 2002. Kimia Pangan. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Winarsi, H. 2010. *Protein Kedelai dan Kecambah Manfaatnya bagi Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Winarti, S. 2010. *Makanan Fungsional*. Surabaya: Graha Ilmu.
- Zacharia, J. T. 2012. Identity, Physical, and Chemical Properties of Pesticides. Tanzania: Dar es Salaam University College of Education Tanzania. 185(1): 137-144.



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 gr)	0,5	0,5	1,0	0,5-10	1,0
Tikus (100 gr)	1,0	0,1	2-5	2-5	5,0
Hamster (50 gr)	-	0,1	1-2	2,5	2,5
Marmot (250 gr)	-	0,25	2-5	5,0	10,0
Merpati (300 gr)	2,0	0,5	2,0	2,0	10,0
Kelinci (2,5 kg)	5-10	0,5	10-20	5-10	20,0
Kucing (3 kg)	5-10	1,0	10-20	5-10	50,0
Anjing (5 kg)	10-20	5,0	20-50	10,0	100,0

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	0,08	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 corn oil (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	211 g	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 : 053/UN25.1.3/BP/PS.8/2017
Lampiran : 2 (lembar) lembar
Hal : Hasil Identifikasi Tumbuhan

18 September 2017

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

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

Nama : Sofi Aliyatul Himah
NIM : 142010101037

Atas kepercayaannya disampaikan terimakasih.

Ketua

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

Tembusan:

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

HASIL IDENTIFIKASI MORFOLOGIS CONTOH TUMBUHAN

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

Catatan:

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

Jember, 18 September 2017
Pelaksana Identifikasi
PLP Laboratorium Agronomi,



Muhammad Sugiono
NIP. 196712182001121001

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 : 1.155 /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 KADAR MDA HATI TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI DIAZINON

Nama Peneliti Utama : Sofi Aliyatul Himah.
Name of the principal investigator

NIM : 142010101037

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



dr. Rizki Riyanti, Sp.PK

Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokól 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 kalibrasi alat dan kontrol kualitas reagen pada pemeriksaan MDA.
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan


Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK

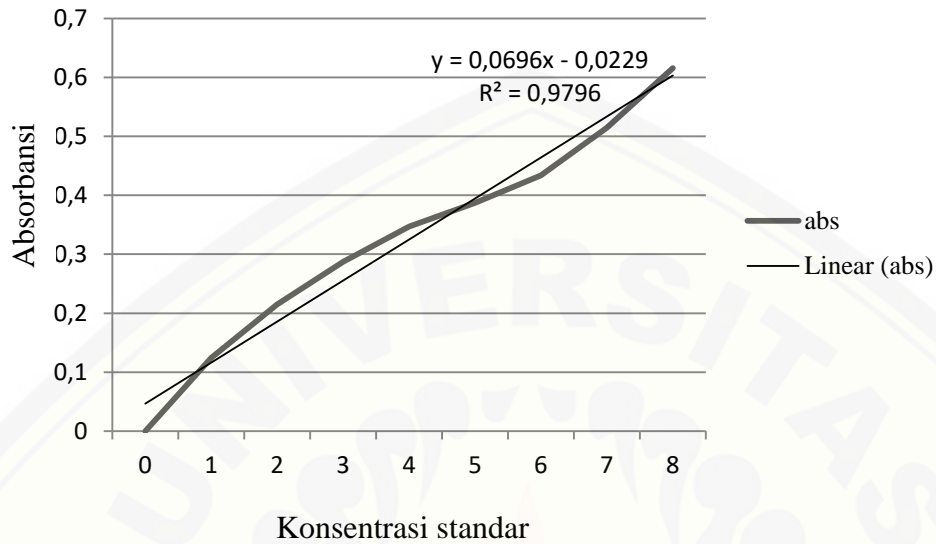


Jember, 25 September 2017
Reviewer



dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

Lampiran 4.1 Kurva Standar Malondialdehid

Kurva Standar MDA

Persamaan kurva:

$$y = 0,069x - 0,022$$

Keterangan: y = nilai absorbansi sample
x = konsentrasi malondialdehid sampel ($\mu\text{g/mL}$)

Lampiran 4.2 Data Kadar MDA Hati

Kelompok	Nomor	Absorbansi	Kadar MDA	Rata-rata
Kn	1	0,413	6,304	6,3534
	2	0,471	7,144	
	3	0,336	5,188	
	4	0,453	6,884	
	5	0,409	6,246	
K(-)	1	0,474	7,188	9,226
	2	0,715	10,681	
	3	0,574	8,637	
	4	0,661	9,898	
	5	0,649	9,724	
K1	1	0,573	8,623	8,8464
	2	0,567	8,536	
	3	0,609	9,144	
	4	0,617	9,260	
	5	0,576	8,667	
K2	1	0,452	6,869	7,8836
	2	0,547	8,246	
	3	0,533	8,043	
	4	0,517	7,811	
	5	0,561	8,449	
K3	1	0,423	6,449	7,0374
	2	0,457	6,942	
	3	0,51	7,710	
	4	0,427	6,507	
	5	0,501	7,579	

Lampiran 4.3 Hasil Analisis Statistik

Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statisti c	Df	Sig.	Statisti c	df	Sig.
Kadar_ MDA	Kelompok normal	,244	5	,200*	,928	5	,582
	Kelompok negatif	,244	5	,200*	,942	5	,683
	Kelompok A	,306	5	,141	,840	5	,166
	Kelompok B	,253	5	,200*	,883	5	,323
	Kelompok C	,222	5	,200*	,870	5	,267

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

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Varians Data

Test of Homogeneity of Variances

MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.428	4	20	.082

Uji One Way Anova

ANOVA

MDA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	28.923	4	7.231	11.186	.000
Within Groups	12.928	20	.646		
Total	41.851	24			

Uji Post Hoc LSD**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Kadar_MDA

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Differenc e (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok normal	Kelompok negatif	-2,87246*	,50849	,000	-3,9332	-1,8118
	Kelompok A	-2,49275*	,50849	,000	-3,5534	-1,4321
	Kelompok B	-1,53043*	,50849	,007	-2,5911	-,4697
	Kelompok C	-,68406	,50849	,194	-1,7448	,3766
Kelompok negatif	Kelompok normal	2,87246*	,50849	,000	1,8118	3,9332
	Kelompok A	,37971	,50849	,464	-,6810	1,4404
	Kelompok B	1,34203*	,50849	,016	,2813	2,4027
	Kelompok C	2,18841*	,50849	,000	1,1277	3,2491
Kelompok A	Kelompok normal	2,49275*	,50849	,000	1,4321	3,5534
	Kelompok negatif	-,37971	,50849	,464	-1,4404	,6810
	Kelompok B	,96232	,50849	,073	-,0984	2,0230
	Kelompok C	1,80870*	,50849	,002	,7480	2,8694
Kelompok B	Kelompok normal	1,53043*	,50849	,007	,4697	2,5911
	Kelompok negatif	-1,34203*	,50849	,016	-2,4027	-,2813
	Kelompok A	-,96232	,50849	,073	-2,0230	,0984
	Kelompok C	,84638	,50849	,112	-,2143	1,9071
Kelompok C	Kelompok normal	,68406	,50849	,194	-,3766	1,7448
	Kelompok negatif	-2,18841*	,50849	,000	-3,2491	-1,1277
	Kelompok A	-1,80870*	,50849	,002	-2,8694	-,7480
	Kelompok B	-,84638	,50849	,112	-1,9071	,2143

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

Uji Korelasi Pearson**Correlations**

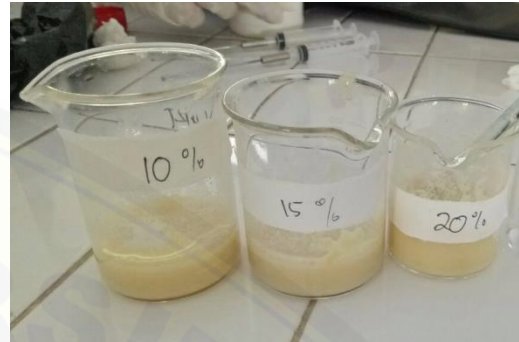
		kelompok	kadar_MD A
kelompok	Pearson Correlation	1	-,750**
	Sig. (2-tailed)		,000
	N	20	20
kadar_MD A	Pearson Correlation	-,750**	1
	Sig. (2-tailed)	,000	
	N	20	20

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

Lampiran 4.4 Dokumentasi Penelitian



Bentuk tepung kedelai



Melarutkan tepung kedelai dalam aquades



Penyondean pada hewan coba



Adaptasi hewan coba



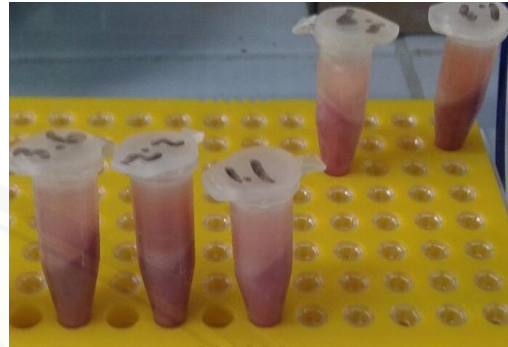
Penggerusan hati dan NaCl 0,9% dingin



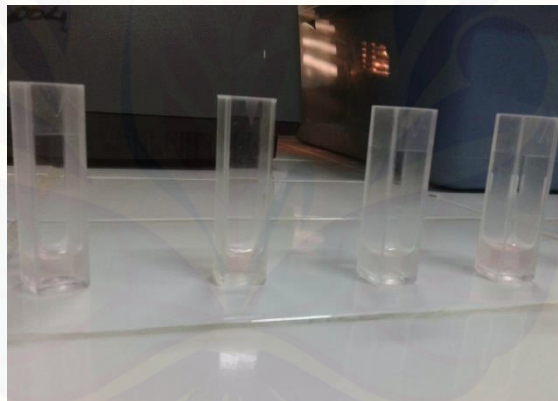
Terminasi hewan coba dan pengambilan hati tikus



Supernatan homogenat divortex setelah ditambahkan aquades, TCA 100%, Na Thio, dan HCl 1 N



Homogenat setelah di sentrifuge



Sampel setelah di inkubasi dan siap di baca absorbansinya