



**POTENSI TEPUNG KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.)  
SEBAGAI NEFROPROTEKTOR TERHADAP KADAR  
BUN DAN KREATININ TIKUS WISTAR JANTAN  
YANG DIINDUKSI DIAZINON**

**SKRIPSI**

Oleh  
**Firman Herdiana**  
**NIM 152010101050**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**



**POTENSI TEPUNG KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.)  
SEBAGAI NEFROPROTEKTOR TERHADAP KADAR  
BUN DAN KREATININ 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

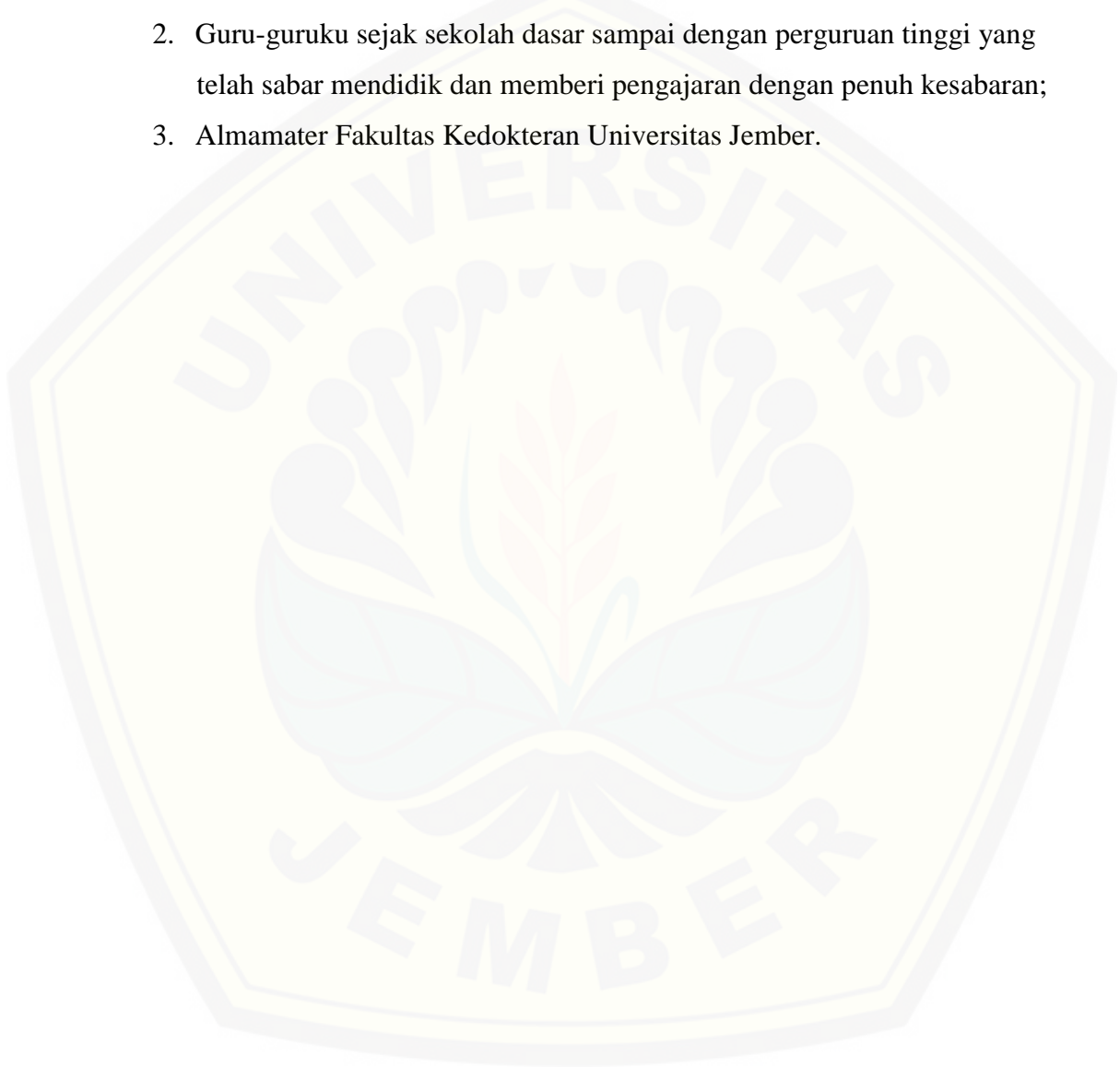
Oleh  
**Firman Herdiana**  
**NIM 152010101050**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Opan Sopian dan Ibunda Ade Patimah yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan, doa, dan nasihat;
2. Guru-guruku sejak sekolah dasar sampai dengan perguruan tinggi yang telah sabar mendidik dan memberi pengajaran dengan penuh kesabaran;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



## MOTO

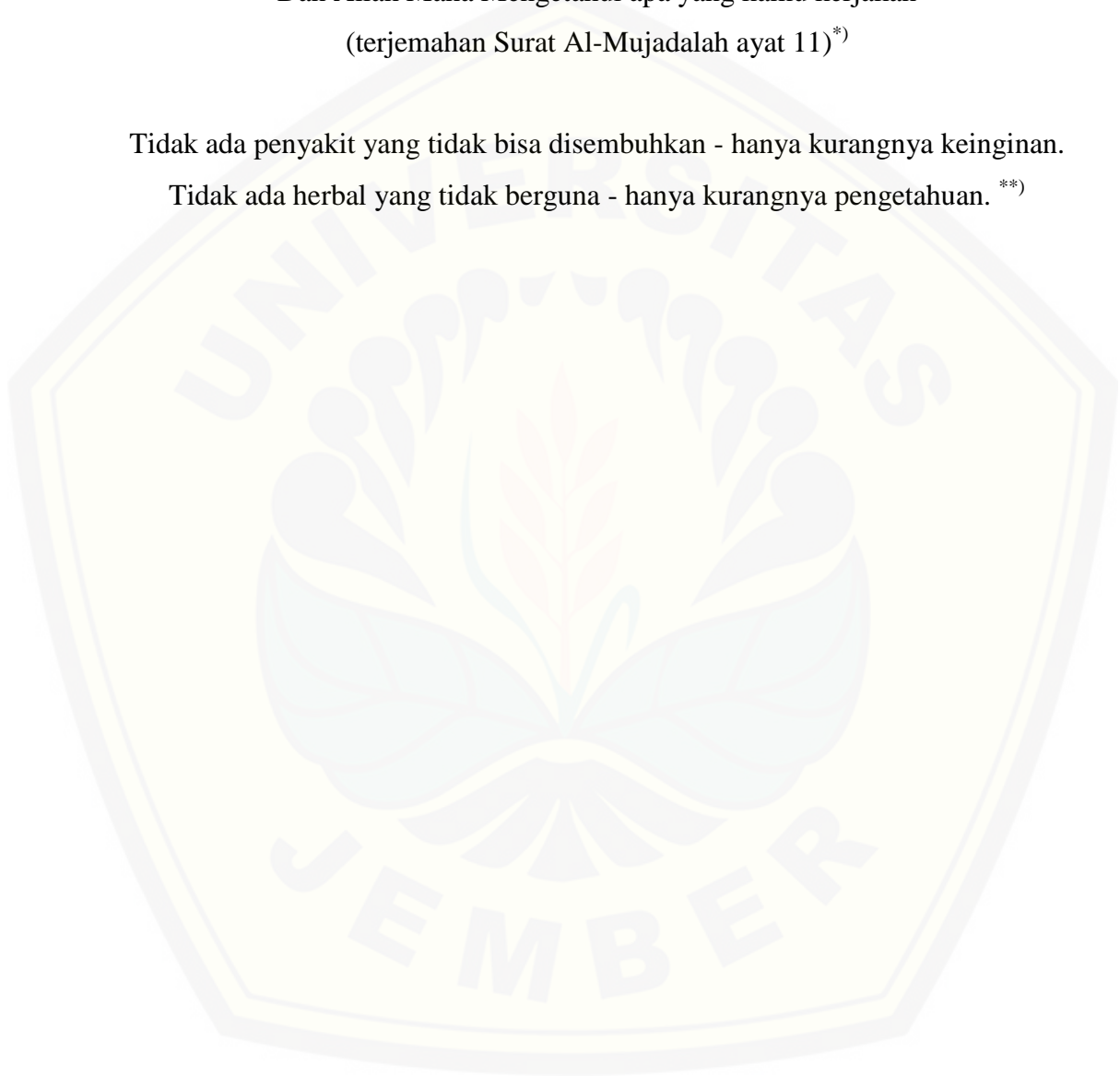
Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.

Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan

(terjemahan Surat Al-Mujadalah ayat 11)<sup>\*)</sup>

Tidak ada penyakit yang tidak bisa disembuhkan - hanya kurangnya keinginan.

Tidak ada herbal yang tidak berguna - hanya kurangnya pengetahuan.<sup>\*\*)</sup>



---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 2006. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Surabaya: CV. Pustaka Agung Harapan.

<sup>\*\*)</sup> Fattahi, H. 2011. *Tawanan Benteng Lapis Tujuh: Biografi Ibnu Sina*. Jakarta: Zaman

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Firman Herdiana

NIM : 152010101050

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul “Potensi Tepung Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) sebagai Nefroprotektor terhadap Kadar BUN dan Kreatinin 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, 4 Januari 2019

Yang menyatakan,

Firman Herdiana

NIM 152010101050

**SKRIPSI**

**POTENSI TEPUNG KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.)  
SEBAGAI NEFROPROTEKTOR TERHADAP KADAR  
BUN DAN KREATININ TIKUS WISTAR JANTAN  
YANG DIINDUKSI DIAZINON**

Oleh  
Firman Herdiana  
NIM 152010101050

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing II : dr. Rena Normasari, M.Biomed.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Potensi Tepung Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) sebagai Nefroprotektor terhadap Kadar BUN dan Kreatinin Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon” karya Firman Herdiana telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada:

Hari , Tanggal : Jumat, 4 Januari 2019

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua,

Anggota I,

dr. Adelia Handoko, M.Si.

dr. Rini Riyanti, Sp.PK.

NIP 19890107 201404 2 001

NIP 19720328 199903 2 001

Anggota II,

Anggota III,

dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed.

dr. Rena Normasari, M.Biomed.

NIP 19821211 200812 2 002

NIP 19830512 200812 2 002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

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

NIP 19730424 199903 1 002

## RINGKASAN

**Potensi Tepung Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) sebagai Nefroprotektor terhadap Kadar BUN dan Kreatinin Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon;** Firman Herdiana, 152010101050; 2018; 100 Halaman; Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Program ketahanan pangan telah menjadi prioritas pembangunan nasional. Salah satu programnya ialah peningkatan swasembada komoditas pangan demi terciptanya akses pangan dan gizi yang berkualitas bagi masyarakat. Proses peningkatan produk pertanian seringkali terganggu oleh berbagai hama. Pengendalian serangan hama paling sering yaitu dengan menggunakan pestisida. Efek buruk yang dapat terjadi dari pemanfaatan pestisida ialah akumulasi residu pestisida pada produk pertanian, pencemaran lingkungan, dan masalah kesehatan pada manusia dan hewan. Pestisida organofosfat merupakan jenis pestisida yang sering digunakan di Indonesia, salah satunya ialah diazinon.

Diazinon akan dimetabolisme di hati menjadi *diazoxon* sebagai bentuk metabolit aktif yang bersifat prooksidan. Paparan diazinon dapat mempengaruhi fungsi ginjal, karena merupakan organ yang mengekskresi metabolit diazinon. Diazoxon akan memicu akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) dan menurunkan antioksidan alami dalam tubuh yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak. Selain kerusakan karena akumulasi ROS, diazinon dapat menyebabkan kerusakan DNA dan kerusakan sel melalui jalur apoptosis. Diazinon dapat mengganggu fungsi ginjal dilihat dari peningkatan kadar *blood urea nitrogen* (BUN) dan kreatinin.

Paparan diazinon dapat mempengaruhi fungsi ginjal, sehingga perlu adanya suatu zat nefroprotektor yang dapat menghambat aktivitas ROS dan apoptosis sel pada ginjal. Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) merupakan tanaman dengan kandungan isoflavon dan Vitamin E tinggi yang berperan sebagai antioksidan. Isoflavon dalam kedelai yakni daidzein dan genistein juga memiliki sifat anti apoptosis dengan cara menghambat aktifitas Bax sehingga dapat memotong jalur



apoptosis sel. Tepung kedelai memiliki kandungan isoflavon tertinggi dengan rata-rata daidzein 67,69%, genistein 89,42%, dan *glycitein* 20,02%.

Penelitian ini merupakan *quasi experimental* dengan rancangan *post test only control group design*, bertujuan untuk mengetahui potensi tepung kedelai sebagai nefroprotektor terhadap kadar BUN dan kreatinin tikus yang diinduksi diazinon. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pengambilan sampel dilakukan secara *simple random sampling* dengan jumlah sampel sebanyak 25 ekor. Hewan coba penelitian ini ialah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan berat 150-300 gram yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Kelompok tersebut terdiri atas kelompok kontrol normal (Kn) yang diberi normal saline selama 28 hari, kelompok kontrol negatif (K-) yang diberi normal saline selama 28 hari kemudian diazinon 40 mg/kgBB yang dilarutkan dalam *corn oil* selama 5 hari, serta 3 kelompok perlakuan (K1, K2, dan K3) yang diberi tepung kedelai dosis berat per volume sebesar 10%, 15%, dan 20% sebanyak 10 mL per hari selama 28 hari kemudian diazinon 40 mg/kgBB yang dilarutkan dalam *corn oil* selama 5 hari. Tepung kedelai dan diazinon diberikan per oral. Pada akhir penelitian tikus diterminasi dan diambil darah melalui jantung, kemudian dilakukan pemeriksaan BUN dengan metode Urease-GLDH (*Glutamate dehydrogenase*) enzymatic UV test dan pemeriksaan kreatinin dengan metode tes kinetik tanpa deproteinasi berdasarkan metode Jaffe.

Data yang didapat berupa kadar BUN dan kreatinin dengan satuan mg/dL. Hasil pengukuran rata-rata kadar BUN dan standar deviasi tiap kelompok perlakuan adalah Kn  $24,076 \pm 1,344$ ; K(-)  $28,768 \pm 3,270$ ; K1  $26,446 \pm 1,934$ ; K2  $24,880 \pm 1,906$ ; K3  $24,278 \pm 1,555$ . Sedangkan pengukuran rata-rata kadar kreatinin dan standar deviasi tiap kelompok perlakuan adalah Kn  $0,866 \pm 0,398$ ; K(-)  $1,306 \pm 0,133$ ; K1  $1,266 \pm 0,189$ ; K2  $1,104 \pm 0,090$ ; K3  $0,934 \pm 0,144$ . Hasil pengukuran kadar BUN dan kreatinin dianalisis dengan menggunakan *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan uji *post hoc Man Whitney U*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) berpotensi mencegah peningkatan kadar BUN dan kreatinin tikus yang diinduksi diazinon ( $p < 0,05$ ).

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Potensi Tepung Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) sebagai Nefroprotektor terhadap Kadar BUN dan Kreatinin Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Kedokteran Universitas Jember dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran.

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. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA. 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. Rena Normasari, M.Biomed. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam penulisan tugas akhir ini;
4. dr. Adelia Handoko, M.Si. dan dr. Rini Riyanti, Sp.PK. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas bimbingan dan bantuannya;
6. Ayahanda Opan Sopian dan Ibunda Ade Patimah, yang selalu memberikan doa, dukungan, bantuan moril dan materiil, serta kasih sayang yang tak terbatas kepada penulis;
7. Sandi Firdaus, kakak yang selalu memberikan semangat kepada penulis;
8. Mbak Nuris selaku analis Laboratorium Biokimia, Mbak Lilik selaku analis Laboratorium Farmakologi, dan Mas Agus yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;

9. Rekan-rekan kerja, Mbak Verantika Indra Susetiyono, Mbak Sofi Aliyatul H, Toyyibatul Hidayati, dan Tegar Syaiful Qodar yang telah memberikan bantuan dan selalu memberikan dorongan serta semangat selama penelitian;
10. Sahabat-sahabat melingkar penulis Ahmad Syaikudin, Saifan Rahmatullah, Muhammad Fikri Udin, Muhammad Rosyid Ridho, Cahyo Bagaskoro, Rangga Okta Sadewa, Mizan Maulana, Nizar Fiska Bayu, Bima Setia Sandya Nugraha, Miftakhul Huda, Achmad Dana Firmanjaya, Eko Dakholal Firdaus, dan Achmad Noval Rilo Pambudi yang telah memberikan semangat dan dukungan dalam penelitian ini;
11. Orang-orang terdekat penulis Fatimatuzzahra, Yoshe Gassarine Ainun Nisaa, Haqiqotul Fikriyah, Diana Eki Cahyani, Ian Putra Romanda, Cagar Irwin Taufan Pamungkas, dan Deuxy Ilma Wahyuliswari yang telah memberikan dorongan untuk segera menyelesaikan penelitian;
12. Keluarga besar Cocyx 2015 dan BEM FK UNEJ atas semangat, dukungan, dan pengalaman selama menempuh pendidikan;
13. Semua pihak yang telah memberikan bantuan, dukungan, dan doa dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak sempurna, maka dari itu penulis menerima kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Semoga karya tulis ini dapat bermanfaat.

Jember, 4 Januari 2019

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	4
<b>1.3 Tujuan</b> .....	4
<b>1.4 Manfaat</b> .....	4
1.4.1 Manfaat Keilmuan .....	4
1.4.2 Manfaat Aplikatif.....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1. Pestisida</b> .....	5
2.1.1 Definisi.....	5
2.1.2 Penggolongan Pestisida .....	5
<b>2.2. Diazinon</b> .....	6
2.2.1 Definisi.....	6
2.2.2 Sifat Fisik dan Kimia .....	7
2.2.3 Farmakodinamik dan Farmakokinetik Diazinon .....	8
2.2.4 Toksisitas Diazinon.....	9

2.2.5 Patomekanisme Nefrotoksisitas Diazinon .....	11
<b>2.3. Ginjal</b> .....	15
2.3.1 Definisi.....	15
2.3.2 Anatomi dan Fisiologi Ginjal .....	15
<b>2.4 BUN dan Kreatinin</b> .....	17
<b>2.5 Kedelai</b> .....	19
2.5.1 Definisi.....	19
2.5.2 Kandungan .....	19
2.5.3 Potensi Antioksidan dan Antiapoptosis Kedelai.....	20
<b>2.6 Tepung Kedelai</b> .....	22
2.6.1 Definisi.....	22
2.6.2 Kandungan .....	23
2.6.3 Metode Penepungan.....	24
<b>2.7 Kerangka Teori</b> .....	26
<b>2.8 Kerangka Konsep</b> .....	28
<b>2.9 Hipotesis Penelitian</b> .....	28
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	29
<b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....	29
<b>3.2 Rancangan Penelitian</b> .....	29
<b>3.3 Populasi dan Sampel Penelitian</b> .....	30
3.3.1 Populasi.....	30
3.3.2 Sampel .....	30
<b>3.4 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	31
<b>3.5 Variabel Penelitian</b> .....	31
3.5.1 Variabel Bebas .....	31
3.5.2 Variabel Terikat .....	31
3.5.3 Variabel Terkendali .....	31
<b>3.6 Definisi Operasional</b> .....	32
3.6.1 Tepung Kedelai.....	32
3.6.2 <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN) .....	32
3.6.3 Kreatinin .....	33
3.6.4 Diazinon.....	33

<b>3.7 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	33
3.7.1 Alat Penelitian.....	33
3.7.2 Bahan Penelitian .....	34
<b>3.8 Prosedur Penelitian</b> .....	34
3.8.1 Uji Kelayakan Etik.....	34
3.8.2 Pemilihan Hewan Coba .....	35
3.8.3 Adaptasi Hewan Coba .....	35
3.8.4 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	35
3.8.5 Pembuatan Tepung Kedelai .....	36
3.8.4 Pemberian Tepung Kedelai.....	37
3.8.5 Penginduksian Diazinon .....	38
3.8.6 Terminasi Hewan Coba .....	38
3.8.7 Pemeriksaan Fungsi Ginjal (BUN dan Kreatinin).....	38
<b>3.9 Analisis Data</b> .....	39
<b>3.10 Alur Penelitian</b> .....	40
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	41
<b>4.1 Hasil Penelitian</b> .....	41
4.1.1 Rendemen Tepung Kedelai.....	41
4.1.2 Pemeriksaan Kadar BUN dan Kreatinin .....	41
4.1.3 Analisis Data Kadar BUN dan Kreatinin.....	41
<b>4.2 Pembahasan</b> .....	44
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	51
<b>5.1. Kesimpulan</b> .....	51
<b>5.2. Saran</b> .....	51
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	52
<b>LAMPIRAN</b> .....	66

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Struktur kimia diazinon .....	7
2.2 Karakteristik toksisitas organofosfat .....	10
2.3 Komposisi zat gizi dalam 100 gram kedelai .....	20
2.4 Analisis proksimat kacang kedelai .....	23
2.5 Analisis tepung kecambah.....	23
2.6 Kadar isoflavon pada berbagai produk olahan kedelai .....	24
3.1 Pembagian kelompok perlakuan .....	36
4.1 Rata-rata kadar BUN dan kreatinin .....	41
4.2 Hasil uji normalitas data kadar BUN ( <i>Shapiro Wilk</i> ).....	42
4.3 Hasil uji komparasi kadar BUN ( <i>Kruskal-Wallis</i> ) .....	43
4.4 Hasil uji <i>post hoc Mann Whitney U</i> kadar BUN .....	43
4.5 Hasil uji normalitas data kadar kreatinin ( <i>Shapiro Wilk</i> ).....	44
4.6 Hasil uji komparasi kadar kreatinin ( <i>Kruskal-Wallis</i> ).....	44
4.7 Hasil uji <i>post hoc Mann Whitney U</i> kadar kreatinin .....	44

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Struktur kimia diazinon .....	7
2.2 Pembentukan NO .....	12
2.3 Pembentukan ROS pada mitokondria .....	14
2.4 Mekanisme apoptosis sel .....	15
2.5 Struktur nefron .....	16
2.6 Siklus kreatinin dan urea .....	18
2.7 Kedelai .....	20
2.8 Struktur dasar isoflavon .....	21
3.1 Skema rancangan penelitian .....	29
3.2 Skema pembuatan tepung kedelai .....	37
3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba .....	40



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
3.1 Lembar Keterangan Persetujuan Etik.....	61
3.2 Surat Rekomendasi KOMBI .....	63
3.3 Determinasi Tanaman Kedelai .....	64
3.4 Pembuatan Tepung Kedelai .....	67
3.5 Daftar Volume Maksimal Larutan Uji Berdasarkan Jalur Pemberian yang Dapat Diberikan pada Berbagai Hewan .....	68
3.6 Tabel Dosis Diazinon .....	69
3.7 Terminasi Hewan Coba .....	70
3.8 Pemeriksaan Kadar BUN .....	71
3.9 Pemeriksaan Kreatinin .....	72
4.1 Data Kadar BUN .....	73
4.2 Data Kadar Kreatinin .....	74
4.3 Hasil Analisis Statistik Kadar BUN dengan SPSS.....	75
4.4 Hasil Analisis Statistik Kadar Kreatinin dengan SPSS .....	79
4.5 Tabel Perhitungan Konversi Dosis Hewan Uji .....	83
4.6 Dokumentasi Penelitian.....	84

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Program ketahanan pangan telah menjadi prioritas pembangunan nasional (Kementerian Pertanian, 2016). Salah satu program ketahanan pangan Kementerian Pertanian Indonesia ialah peningkatan swasembada komoditas pangan demi terciptanya akses pangan dan gizi yang berkualitas bagi masyarakat (Suryana 2014). Proses peningkatan produk pertanian sering terganggu oleh berbagai hama. Untuk mengatasi serangan hama tersebut, pengendalian paling sering yaitu dengan menggunakan pestisida. Penggunaan pestisida di Indonesia semakin meningkat setiap tahunnya, ditandai dengan penggunaan pestisida dari 11.587,2 ton pada tahun 1998 menjadi 17.977,2 ton pada tahun 2000 (Kementerian Pertanian, 2016).

Efek buruk yang dapat terjadi dari pemanfaatan pestisida ialah akumulasi residu pada produk pertanian, pencemaran lingkungan, serta masalah kesehatan pada manusia dan hewan. Berdasarkan *World Health Organisation* (WHO) kasus keracunan pestisida pada pekerja bidang pertanian di dunia terjadi sekitar 5 juta kasus setiap tahunnya dengan tingkat mortalitas mencapai 220.000 jiwa. Kejadian keracunan pestisida di Indonesia pada tahun 1990-2005 terjadi sebanyak 4867 kasus dengan mortalitas sebesar 3789 jiwa (Ma'rufi, 2012). Penelitian Linn *et al.* (2008) menyatakan terdapat 4799 kasus keracunan organofosfat di Taiwan terhitung dari Juli 1985 sampai Desember 2006. Di Indonesia data prevalensi keracunan organofosfat masih sangat terbatas.

Pestisida organofosfat merupakan jenis pestisida yang sering digunakan di Indonesia (Raini, 2007). Organofosfat merupakan golongan pestisida yang dianjurkan Kementerian Pertanian Indonesia dan disukai oleh petani karena sifatnya yang terurai lebih cepat dibanding 4 golongan pestisida lainnya dan mempunyai daya basmi cepat dan signifikan dalam mengusir hama (Alegantina *et al.*, 2005; Tuhumury *et al.*, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Aribowo *et al.* (2016), di Desa Umbulsari, Kecamatan Umbulsari, Kabupaten Jember, menyatakan bahwa dari 88 petani jeruk terdapat 73 petani jeruk yang menggunakan pestisida organofosfat dan 24 diantaranya menunjukkan gejala keracunan pestisida. Hal

tersebut disebabkan kurangnya pengetahuan petani tentang bahaya pestisida, jumlah pengaplikasian dan cara penyemprotan organofosfat yang tidak sesuai, serta tidak menggunakan alat pelindung diri (APD).

Salah satu jenis organofosfat yang banyak digunakan ialah diazinon. Diazinon relatif dapat terurai menjadi bentuk turunan lain dan dapat meninggalkan residu di lingkungan (Aziz, 2011; Muflifah *et al.*, 2015). Tingkat persistensi pestisida organofosfat di lingkungan lebih rendah dari organoklorin, namun memiliki tingkat toksisitas yang tinggi (Aziz, 2011). Penelitian Muflifah *et al.* (2015), menyatakan bahwa residu diazinon pada tanaman sawi (*Brassica juncea* (L.)) dapat terurai sekitar 8-35 hari yang berpotensi dikonsumsi oleh konsumen.

Paparan diazinon dapat menyebabkan efek toksik berupa penghambatan asetilkolinesterase (AChE) sistem saraf, yang menyebabkan akumulasi asetilkolin (ACh) pada sinapsis dan *neuromuscular junction*. Keracunan organofosfat menunjukkan gambaran yang heterogen berkaitan dengan krisis kolinergik serta kerusakan fungsi organ hepar dan ginjal (Amanvermez *et al.*, 2010). Ginjal merupakan salah satu organ yang terpengaruh karena merupakan organ yang mengekskresi metabolit diazinon. Hal tersebut dibuktikan dengan penelitian Shah dan Iqbal (2010), yang menyatakan pemberian diazinon 10 mg/kgBB meningkatkan kadar BUN dan kreatinin serum sekitar 1,2 kali lipat dan 1,1 kali lipat dari kontrol normal. Selain itu, penelitian Sarhan dan Al-Sahhaf (2011), menunjukkan bahwa pemberian diazinon pada hewan coba meningkatkan kadar *blood urea nitrogen* (BUN) dan kreatinin serum serta memberikan gambaran kerusakan pada pemeriksaan histopatologi ginjal. Pemeriksaan biokimia BUN dan kreatinin menjadi pilihan karena dapat mengevaluasi kerusakan dan menunjukkan progresivitas penyakit sehingga dapat dilakukan pencegahan dan penatalaksanaan lebih awal (Verdiansah, 2016).

Diazinon dapat menyebabkan akumulasi *reactive oxygen species* (ROS), menurunkan *enzyme superoxidodismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPx), dan *glutathione reductase* (GR) yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak yang dibuktikan dengan peningkatan *malondialdehyde* (MDA) (Husain, 2010; Ozbek, 2012). Selain kerusakan karena akumulasi ROS, diazinon dapat

menyebabkan kerusakan DNA (Poovala *et al.*, 1999) dan kerusakan sel melalui jalur apoptosis (Sargazi *et al.*, 2016).

Paparan diazinon yang terus menerus dapat mempengaruhi fungsi ginjal, sehingga perlu adanya suatu zat nefroprotektor yang dapat menghambat aktivitas ROS dan apoptosis sel pada ginjal. Isoflavon adalah kelas flavonoid tanaman yang telah dikenal sebagai zat antioksidan yang dapat menghambat reaksi oksidasi sel (Kumar dan Pandey, 2013). Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) merupakan salah satu tanaman dengan isoflavon yang tinggi (Waki *et al.*, 2016), yang dapat menurunkan konsentrasi ROS dan MDA serta aktivasi SOD dan GPx di berbagai organ (Ma *et al.*, 2015). Selain itu, penelitian Al-Ashaal *et al.* (2012), Adams *et al.* (2012), dan Funaki *et al.* (2015) menyebutkan bahwa isoflavon dalam kedelai yakni daidzein dan genistein juga memiliki sifat anti apoptosis. Kedelai juga memiliki kandungan vitamin E yang berperan sebagai antioksidan dengan menghambat produksi ROS pada saat terjadi peroksidasi lemak (*National Institutes Health of US*, 2016).

Kedelai dapat dikonsumsi dalam bentuk olahan susu kedelai, tahu, tempe, dan tepung. Selain kandungan antioksidan yang tinggi, kedelai juga mudah ditemukan, merupakan bahan pangan pokok utama yang aplikatif dan mudah diolah, serta merupakan salah satu dari tujuh produk unggulan Universitas Jember. Pada penelitian Bhagwat *et al.* (2008), menyatakan kandungan isoflavon kedelai tertinggi terdapat dalam bentuk tepung dibandingkan dengan bentuk olahan lain dengan rata-rata daidzein 67,69%, genistein 89,42%, dan *glycitein* 20,02%.

Penelitian mengenai potensi tepung kedelai sebagai nefroprotektor masih terbatas sehingga penulis berharap penelitian mengenai potensi kedelai dapat dilakukan agar didapatkan data yang relevan. Oleh karena itu peneliti menguji potensi tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) sebagai nefroprotektor terhadap kadar BUN dan kreatinin pada tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini sebagai berikut.

1. Apakah tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) berpotensi sebagai nefroprotektor terhadap kadar BUN tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon?
2. Apakah tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) berpotensi sebagai nefroprotektor terhadap kadar kreatinin tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon?

## 1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini ialah sebagai berikut.

1. Untuk mengetahui potensi tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) sebagai nefroprotektor terhadap kadar BUN tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon.
2. Untuk mengetahui potensi tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) sebagai nefroprotektor terhadap kadar kreatinin 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* (L.) Merr.) sebagai nefroprotektor.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Pestisida

#### 2.1.1 Definisi

Secara bahasa, pestisida berarti pembunuh hama. Pestisida merupakan senyawa kimia zat pengatur organisme renik, virus, dan zat lainnya yang digunakan untuk melindungi tanaman atau suatu bagian tanaman (Yuantari, 2013). Dengan kata lain pestisida adalah senyawa yang digunakan untuk membunuh hama dan mengusir organisme pengganggu. Pestisida dikategorikan menjadi insektisida (organofosfat, organoklorin, karbamat), rodentisida (antikoagulan), herbisida (*paraquat*, *diquat*, asam *2,4-diklorofenoksiasetat [2,4-D]*), fungisida (*dithiocarbamates*, *captan*), dan fumigan (*ethylene dibromide*, *methyl bromide*) (Abdollahi *et al.* 2004). Penggunaan pestisida dalam bidang pertanian merupakan salah satu bentuk teknologi pertanian yang mempunyai tujuan meningkatkan produktivitas suatu lahan sehingga proses pertanian menjadi lebih efisien dan efektif serta ekonomis. Menurut Direktorat Jendral Prasarana dan Sarana Pertanian Indonesia (2016) per 31 Oktober, data pestisida yang terdaftar dan diijinkan untuk digunakan ada sebanyak 3930 jenis.

#### 2.1.2 Penggolongan Pestisida

Cara kerja pestisida berdasarkan sifat kimianya dibagi menjadi 4 golongan utama sebagai berikut (Hudayya dan Jayanti, 2012).

1. Organoklorin merupakan insektisida sintetis yang paling lama. Toksisitas organoklorin pada serangga ditandai dengan adanya gangguan sistem saraf pusat seperti kejang, hiperaktivitas, hingga terjadi kerusakan sistem saraf dan otot yang berujung pada kematian. Residu organoklorin bersifat stabil di lingkungan dan sulit terurai. Contoh pestisida organoklorin ialah dikloro difenil trikloroetana (DDT) misalnya *dicofol*, klorobenzilat, dan *metoxychlor*; senyawa siklodien misalnya aldrin, dieldrin, endrin, endosulfan, dan heptaklor; Terpena berklor misalnya toksafen (Yuantari, 2013).

2. Organofosfat merupakan insektisida yang menghambat AChE yang menyebabkan terjadinya penumpukan ACh yang mengganggu pengantaran impuls saraf ke sel-sel otot. Hal tersebut menyebabkan otot mengalami kontraksi, kejang, kelumpuhan (paralisis), dan dapat menyebabkan kematian pada serangga. Contoh pestisida organofosfat ialah diazinon, malation, dan profenofos (Anshori dan Prasetyono, 2016).
3. Karbamat merupakan insektisida yang berspektrum luas dan mudah terurai di lingkungan. Karbamat membunuh serangga dengan mekanisme yang sama dengan insektisida organofosfat yaitu dengan menghambat AChE pada sistem saraf. Perbedaan dengan organofosfat, penghambatan enzim oleh karbamat bersifat *reversible* yaitu penghambatan enzim bisa pulih kembali. Contoh pestisida karbamat ialah karbarin dan karbofuran (Munarso, 2009).
4. Piretroid merupakan insektisida yang berasal dari piretrum sintetis bersifat stabil. Pestisida ini murah dan efektif dalam mengendalikan serangga. Toksisitas kontak piretroid yang kuat dapat mengganggu sistem saraf tepi dan pusat serangga dan menstimulasi aktivitas sel saraf secara berlebihan yang dapat menyebabkan paralisis sampai kematian. Contoh pestisida piretroid ialah sipmetrin dan siflutrin (Buyang dan Pasaribu, 2014).

## 2.2. Diazinon

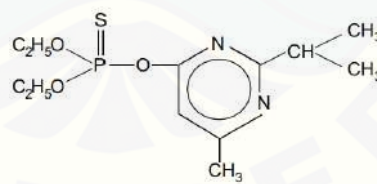
### 2.2.1 Definisi

Diazinon yang memiliki nama kimia (*O,O-diethyl-O-[2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinyl] phosphorothioate*) merupakan insektisida sintetis golongan organofosfat yang efektif digunakan untuk membunuh serangga (Shah dan Iqbal, 2010). Diazinon yang dikenal dengan nama dagang Basudin, Dazzel, *Nucidol*, *Spectracide*, Diazinon 600 EC, Agrostar 600 EC, dan Prozinon 600 EC, bekerja dengan menghambat AChE yang berfungsi memecah ACh secara *irreversible* (Beydilli *et al.*, 2015). Diazinon telah banyak digunakan di bidang pertanian dan hortikultura mengendalikan serangga di tanaman hias, rumput, buah-buahan, dan sayuran (Sargazi *et al.*, 2016).

### 2.2.2 Sifat Fisik dan Kimia

Diazinon memiliki rumus molekul  $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$  dan merupakan senyawa yang tidak berwarna. Diazinon merupakan senyawa organofosfat yang mempunyai sifat dapat terurai dan tidak terjadi bioakumulasi dalam tanah serta mempunyai solubilitas parsial pada air sebesar 40 parts per million (ppm) atau 0,04%, memiliki tingkat persistensi sedang (Durmaz *et al.*, 2006) dan dapat dicampur dengan pelarut organik (Sumansyah *et al.*, 2013). Struktur kimia diazinon dapat dilihat pada Gambar 2.1 dan Tabel 2.1.

Diazinon lebih stabil dalam lingkungan suhu rendah, kelembaban rendah, dan alkalinitasnya rendah. Kemudian Sumansyah *et al.* (2013), mengatakan bahwa degradasi diazinon lebih cepat pada air dengan suhu lebih hangat. Selain itu, diazinon sangat *mobile* pada tanah dengan kandungan bahan organik rendah sampai sedang, namun *immobile* pada kandungan bahan organik tinggi (Koprucu *et al.*, 2006). Diazinon terdegradasi oleh proses hidrolisis, terutama pada kondisi asam. Waktu paruh diazinon pada kondisi air steril dengan pH 5 ialah 12 hari, sedangkan waktu paruh diazinon pada air steril dengan pH 7 ialah 138 hari. Waktu paruh diazinon pada studi laboratorium menggunakan media tanah dengan pH 7,8 ialah selama 39 hari (Sumansyah *et al.*, 2013).



Gambar 2.1 Struktur kimia diazinon (Galloway & Handy, 2003)

Tabel 2.1 Struktur kimia diazinon

Nama IUPAC	<i>Diethoxy-[(2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinyl)oxy]-thioxophosphorane</i>
Nama lain	<i>O,O-Diethyl-O-(2-isopropyl-6-methyl-pyrimidine-4-yl) phosphorothioate</i>
Rumus molekul	$C_{12}H_{21}N_2O_3PS$
Berat jenis	304,35 g/mol
Penampakan	Cairan tidak berwarna hingga cokelat tua
Data ini didapatkan pada kondisi standar (suhu 25 °C, dengan 100 kPa)	
Sumber: Sumansyah <i>et al.</i> , (2013)	



Diazinon mempunyai spektrum daya bunuh yang luas terhadap serangga dan cacing. Diazinon terhadap mamalia memiliki toksisitas sedang, dengan *lethal doses* (LD50) oral akut 96-967 mg/kgBB pada tikus jantan dan 66-635 mg/kgBB dan pada tikus betina. Sedangkan LD50 dermal akut pada tikus adalah lebih dari 2000 mg/kgBB, LD50 inhalasi akut pada tikus ialah 3,5 mg (Sumansyah *et al.* 2013). Sedangkan pada penelitian Lorgue *et al.* tahun 1996 menyatakan bahwa LD50 diazinon oral pada tikus sebesar 300-850 mg/kgBB.

### 2.2.3 Farmakodinamik dan Farmakokinetik Diazinon

Diazinon menghambat AChE yang menghasilkan akumulasi neurotransmitter. Diazinon memiliki sifat menghambat AChE secara sedang, namun metabolit berupa *diazoxon* memiliki sifat yang jauh lebih poten. Metabolisme diazinon terjadi oleh aktifitas enzim sitokrom P450 (CYP450) dan *paraoxonase* (PON) yang mengkatalase diazinon menjadi *diazoxon* juga mendetoksifikasi diazinon dan *diazoxon* menjadi *2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine* (IMHP), *diethylthiophosphate* (DETP), dan *diethylphosphate* (DEP) dalam hepar dan usus halus (Poet *et al.*, 2004).

Tubuh memiliki tiga jenis esterase yaitu A, B, dan C. Esterase A dan C tidak dapat dinonaktifkan oleh organofosfat. Sedangkan B esterase seperti *carboxyesterase*, *butyrylcholinesterase*, dan AChE secara stoikiometri berikatan dengan *diazoxon* dan menyebabkan inaktivasi esterase yang bersifat *irreversible*. Maka dari itu pemeriksaan AChE dapat mejadi marker terjadinya paparan pestisida organofosfat. Berdasarkan percobaan ultrafiltrasi *in vitro*, diazinon dilaporkan 89% terikat pada protein plasma (Wu *et al.*, 1996). Kerena metabolisme diazinon yang meluas melauai peredaran darah, diazinon atau *diazoxon* dapat diekskresi di urin. Namun, metabolit yang stabil seperti DETP, DEP, dan IMHP merupakan metabolit diazinon yang dengan mudah dapat diekskresikan dalam urin yang dapat berpotensi menjadi biomarker paparan diazinon. Perhitungan metabolit urin seperti IMHP dan penghambatan kolinesterase keduanya dapat menjadi biomarker. Biomarker IMHP

dan penghambatan kolinesterase bergantung pada rute, lama paparan, metabolisme, dan ekskresi metabolit diazinon (Poet *et al.*, 2004).

Diazinon dapat dengan mudah memasuki tubuh karena memiliki sifat lipofilik sehingga dapat cepat diabsorpsi melewati saluran pencernaan, saluran pernafasan, dan kulit (Kim *et al.*, 2017). Penelitian Poet *et al.* tahun 2004 menyatakan bahwa pemberian diazinon secara oral pada hewan coba dengan dosis 50 and 100 mg/kgBB memiliki kadar tertinggi di darah pada 3 jam pasca induksi diazinon yaitu sebesar 504 dan 967 nmol/L. Sedangkan kadar IMHP terdeteksi pada jam ke 1, 3,6, 12, dan 24 pasca induksi diazinon. Pada urin kadar IMHP terdeteksi pada jam 12 dan 24 pasca induksi diazinon. Data ini menunjukkan bahwa diazinon secara luas dimetabolisme menjadi IMHP dan diekskresikan di urin.

Diazinon secara cepat diabsorpsi secara oral. Bioavailabilitas diazinon secara oral yang dilarutkan dalam *corn oil* memiliki rentang 70% sampai 80%. Hal ini disebabkan metabolisme diazinon oleh CYP450 dan PON di usus halus yang merupakan tempat *first-pass detoxification* yang menurunkan bioavailabilitas oral diazinon (Cook dan Shenoy, 2003). Data mengenai absorpsi diazinon melalui pernafasan dan kulit sangat terbatas. Menurut penelitian Wester *et al.* pada tahun 1993 menyatakan bahwa absorpsi diazinon melalui kulit hanya 4%, sehingga efek toksik diazinon hanya dapat terjadi pada dosis tinggi.

#### 2.2.4 Toksisitas Diazinon

Efek penggunaan pestisida diazinon dalam peningkatan produktifitas dan mutu pertanian dapat meningkatkan berbagai risiko kesehatan pada manusia. Dampak pestisida pada kesehatan manusia tersebut dapat secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung pestisida dapat menyebabkan keracunan pada petani. Hal tersebut disebabkan oleh kurangnya pengetahuan petani tentang bahaya pestisida, pengaplikasian jumlah serta cara penyemprotan yang tidak sesuai, dan tidak menggunakan alat pelindung diri. Penelitian Aribowo *et al.* (2016), menyatakan 27,27% dari responden petani jeruk mengalami gejala keracunan akut seperti pusing, mata berair, dan mual-mual karena proses penyemprotan pestisida. Secara tidak langsung pestisida dapat berdampak pada konsumen yang

mengonsumsi hasil pertanian yang mengandung residu pestisida (Muflihah *et al.*, 2015). Penelitian Shah dan Iqbal (2010), menyatakan bahwa pemberian 10 mg/kg berat badan, dapat menurunkan enzim GR, *glukose-6-phosphatedehydrogenase*, *catalase*, dan GPx yang mengarah pada akumulasi ROS. Pemeriksaan BUN dan kreatinin yang merupakan metode evaluasi disfungsi ginjal yang berguna dan murah serta dapat menunjukkan adanya gangguan fungsi ginjal dengan peningkatan kadar BUN dan kreatinin (Shah dan Iqbal, 2010).

Toksisitas diazinon yang utama ialah menghambat AChE dengan membentuk kompleks fosforilasi yang stabil bersifat *irreversible* (Poovala *et al.* 1999), sehingga tidak dapat memecah ACh pada sinaps dan ganglion sinaps. Penumpukan ACh pada reseptor menyebabkan stimulasi berlebihan pada reseptor muskarinik dan nikotik. Akumulasi ACh dengan cepat dapat bermanifestasi pada toksisitas akut berupa krisis kolinergik dengan gejala sekresi kelenjar, kelelahan, pupil miosis, dan fasikulasi otot (Husain, 2010). Karakteristik toksisitas organofosfat dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Karakteristik toksisitas organofosfat

Kimia Dasar	Contoh	Lokasi Toksisitas	Tanda dan Gejala Akut
Organofosfat	Diazinon, <i>malathion</i> , <i>parathion</i> , <i>clorpyrifos</i> , <i>diclorvos</i>	Inhibitor <i>irreversibel</i> pada sel darah merah AchE, kolinsterase, dan plasma kolinsterase	Ringan: lelah, sakit kepala, penglihatan kabur, pusing, mati rasa ekstremitas, mual, muntah, keringat berlebih dan air liur, dan sesak di dada Sedang: lemah, sulit bicara, fasikulasi muskular, dan miosis Parah: tidak sadarkan diri, kelumpuhan, gangguan pernafasan, aritmia jantung, dan sianosis.

Sumber: Abdollahi *et al.*, (2004)

Inaktivasi AChE karena paparan organofosfat seperti diazinon dapat terkumulasi di berbagai lokasi sebagai berikut (Kamanyire dan Karalliedde, 2004).

1. Situs muskarinik, yang menyebabkan peningkatan sekresi (*bronchorrhoea*, salivasi, dan berkeringat), bronkokonstriksi (sesak di dada dan mengi), bradikardia, muntah dan peningkatan motilitas gastrointestinal (perut

- kembung, dan diare). Organofosfat menyebabkan miosis mata yang menurunkan tajam penglihatan.
2. Situs nikotik pada *neuromuscular junction* menyebabkan fasikulasi otot dan kelumpuhan.
  3. Di dalam sistem saraf pusat dapat menyebabkan sakit kepala, insomnia, pusing, kebingungan, dan mengantuk. Apabila paparan dalam jumlah besar dapat menyebabkan bicara pelo, kejang-kejang, koma, dan depresi pernapasan.

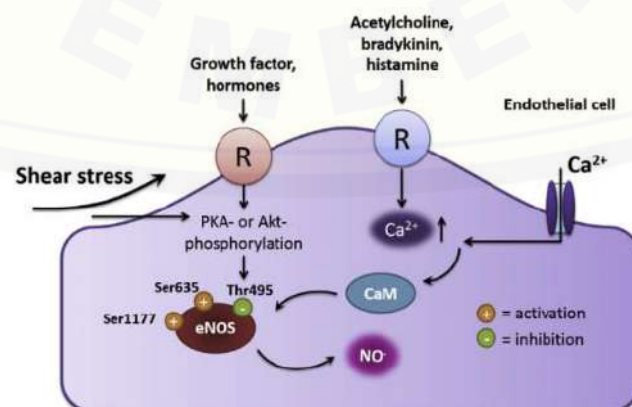
#### 2.2.5 Patomekanisme Nefrotoksisitas Diazinon

Penelitian Al-Attar *et al.* (2017), menyatakan bahwa pemberian diazinon meningkatkan kadar serum alkalin fosfatase, alanin transaminase, aspartat transaminase, *gamma glutamyl transferase*, bilirubin total, kreatinin, dan malondialdehid. Pemberian diazinon menyebabkan kerusakan ginjal karena diazinon meningkatkan produksi derivat oksigen reaktif ROS seperti *superoxide ion* ( $O_2^-$ ), *hydrogenperoxide* ( $H_2O_2$ ), dan *peroxyradical* ( $OH^\cdot$ ) dan radikal bebas lain seperti *nitric oxide* (NO) (Ozbek, 2012).

Diazinon menyebabkan menurunnya *glutathione reductase* sehingga produksi *glutathione* berkurang yang akan mengarah pada menumpuknya *hidroperoxide* ( $OH^\cdot$ ) sebagai agen ROS. Radikal bebas ROS sangat reaktif dan dapat mengoksidasi makromolekul sel (lemak, DNA, asam nukleat dan protein) yang dapat menyebabkan kelainan gen. Penumpukan ROS dapat menyerang berbagai molekul termasuk lemak dan menyebabkan peroksidasi lemak. Peroksidasi lemak dapat ditunjukkan dengan peningkatan malondialdehid (MDA) (Akturk *et al.*, 2010). Secara alami tubuh memiliki beberapa mekanisme yang dapat mencegah kerusakan jaringan karena ROS ini. Mekanisme pencegahannya dikategorikan menjadi sistem enzimatik berupa enzim SOD, GPx, dan *glutathione reductase*; dan non enzimatik yaitu vitamin C, vitamin E atau tokoferol, dan beta-karoten. Setiap antioksidan tersebut mempunyai aktivitasnya masing masing namun tetap bekerja sinergi (Husain, 2010). Aktivitas antioksidannya dapat terjadi dengan cara pengikatan ion-ion logam, *scavenger* oksigen, dan dekomposisi

hidroperoksida menjadi bentuk non radikal. Menurut penelitian Wulandari *et al.* tahun 2007, pemberian diazinon 40, 50, dan 60 mg/KgBB pada 3 kelompok tikus selama 5 hari dapat menyebabkan kongesti, piknosis, dan nekrosis jaringan. Kerusakan ginjal akibat diazinon menjadi dominan karena diazinon dan metabolitnya yang terdistribusi dalam darah dan diekskresi oleh ginjal. Distribusi aliran darah dalam ginjal paling besar terjadi pada bagian korteks yaitu sekitar 90% dari total aliran darah (Al-Attar *et al.*, 2017).

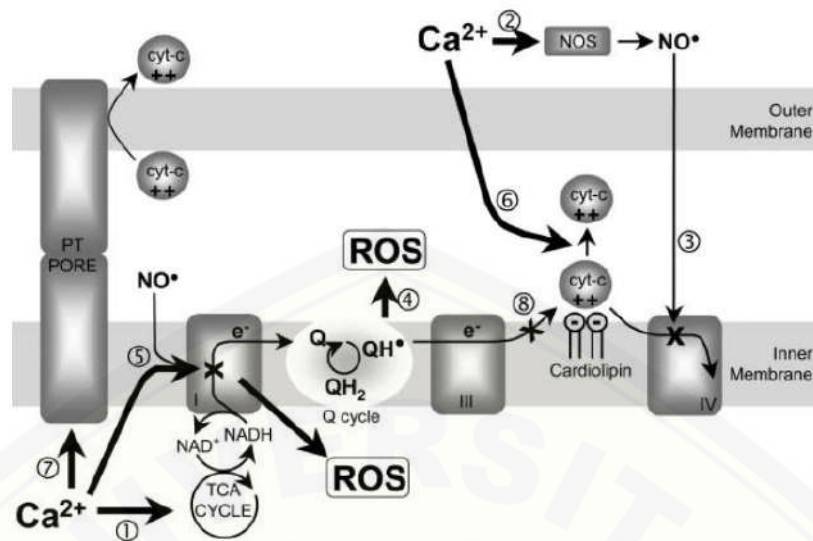
Diazinon ketika masuk ke dalam tubuh akan dimetabolisme di hati dan terbentuk metabolit aktif berupa *diazoxon* (Lari *et al.*, 2013). *Diazoxon* menghambat enzim AChE yang menyebabkan Ach tetap berikatan dengan reseptornya yaitu *caveolin*. Ikatan antara ACh dan reseptornya akan meningkatkan influks ion kalsium ( $Ca^{2+}$ ) yang selanjutnya akan berikatan dengan *calmodulin* (CaM). Ikatan tersebut mengaktifkan *calmodulin-binding domain* dari *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS) yang menghasilkan NO. Pembentukan NO dapat dilihat pada Gambar 2.2. Pada saat produksi NO tinggi, GSH akan mengikat NO agar menjadi bentuk yang stabil. Ikatan ini akan mengurangi jumlah GSH. Apabila produksi NO lebih banyak dari GSH maka akan memicu keadaan stres oksidatif (Zhao *et al.*, 2015). Jumlah GSH yang berkurang akan mengakibatkan radikal bebas seperti radikal hidroksil (OH), *superoxide anion* radikal ( $O_2$ ), dan *peroxyl radikal* (ROO) tidak dapat dinetralkan. Radikal bebas ini dapat bereaksi dengan asam lemak tak jenuh (PUFA) yang banyak terdapat pada membran sel termasuk nefron ginjal sehingga terjadi peroksidasi lipid (Lari *et al.*, 2013)



Gambar 2.2 Pembentukan NO (Zhao *et al.*, 2015)

Selain menghambat AchE, *diazoxon* juga dapat mengganggu jalur respirasi mitokondria yang menyebabkan gangguan produksi ATP pada jalur transfer elektron di mitokondria. Keadaan  $\text{Ca}^{2+}$  intrasel dan NO yang tinggi, akibat stimulasi diazinon, akan mengarah pada pembentukan ROS oleh mitokondria. Gambar 2.3 menjelaskan mekanisme  $\text{Ca}^{2+}$  dan NO menstimulasi mitokondria menghasilkan ROS. Banyaknya  $\text{Ca}^{2+}$  pada sel akan berdifusi ke dalam mitokondria dan menstimulasi siklus *tricarboxylic acid* (TCA cycle) (1) yang akan meningkatkan aliran elektron ke dalam rangkaian jalur respirasi. Di dalam sitoplasma sel  $\text{Ca}^{2+}$  menstimulasi NOS yang selanjutnya akan menghasilkan NO. Produksi NO ini akan menghambat jalur respirasi pada kompleks IV. Kejadian tersebut akan meningkatkan produksi ROS dari siklus Q (4). Selain itu, NO dan  $\text{Ca}^{2+}$  dapat menghambat kompleks I yang diyakini dapat memproduksi ROS (5). Di dalam membran mitokondria, konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  yang tinggi dapat memisahkan ikatan sitokrom c dan *cardiolipin* dari membran bagian dalam dengan mitokondria (6) yang dapat menyebabkan pelepasan sitokrom c yang mengarah pada apoptosis sel (7). Pelepasan sitokrom c dari *cardiolipin* akan menghambat proses transfer elektron mitokondria pada kompleks III (8). *Cardiolipin* juga dapat teroksidasi dengan adanya ROS, hal tersebut menginduksi kerusakan ikatan *cardiolipin*-sitokrom c dan terjadi pelepasan sitokrom c. Gangguan tersebut menyebabkan produksi ROS terutama  $\text{O}_2^-$  dan deplesi ATP (Brookes *et al.*, 2004).

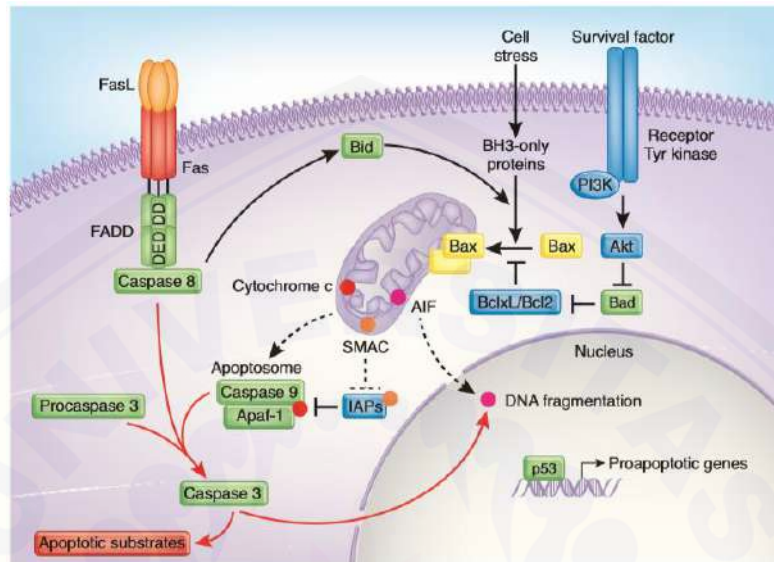
Deplesi ATP dapat menyebabkan gangguan ion transport termediasi ATP. Kegagalan fungsi dari ion transport ini menyebabkan lebih banyak influks  $\text{Ca}^{2+}$  dan menyebabkan lebih banyak terbentuk NO. Ketika produksi NO berlebihan maka terjadi akumulasi ROS yang melebihi sistem pertahanan antioksidan, sehingga mengarah pada terjadi stres oksidatif (Pearson dan Patel, 2016).



Gambar 2.3 Pembentukan ROS pada mitokondria (Brookes *et al.*, 2004)

Diazinon dan metabolitnya menyebabkan apoptosis pada sel nefron yang dibagi menjadi dua jalur utama yaitu jalur ekstrinsik dan jalur intrinsik (Gambar 2.4). Pada jalur ekstrinsik reseptor mengarah pada kompleks multimolekuler yang mencakup protein adaptor seperti *fas associated via death domain* (FADD) dan aktivator caspase 8 dan 10. Caspase ini diaktifkan setelah oligomerisasi dan kemudian memotong substrat protein untuk mengaktifkan caspase 3. Sedangkan jalur intrinsik melibatkan organel intraseluler terutama mitokondria. Pada apoptosis jalur intrinsik, mekanisme apoptosis berhubungan dengan adanya stres oksidatif. Saat terjadi stres pada sel, maka akan memicu aktivasi *BH3-only protein* yang memicu aktivasi alosterik Bax dan/atau Bak. Aktivitas Bax ini menyebabkan reaksi oligomerisasi pada mitokondria dan mengganggu permeabilitas membran luar mitokondria. Permeabilitas mitokondria yang terganggu melepaskan faktor proapoptotik seperti sitokrom *c*, *second mitochondria-derived activator of caspase* (SMAC), dan faktor yang menginduksi apoptosis atau *apoptosis-inducing factor* (AIF). Sitokrom *c* memfasilitasi oligomerisasi Apaf-1 dan procaspase 9 dalam apoptosom, menghasilkan aktivasi caspase 9. Caspase 9 mengaktifkan caspase 3 dan 7 menghasilkan proteolisis yang tersebar dalam sel dan mengarah pada kematian sel (Sanz *et al.*, 2008). Menurut penelitian Shiri *et al.*, (2016), menyatakan bahwa diazinon menyebabkan kenaikan secara signifikan ekspresi caspase 9,

caspase 8, dan caspase 3 yang menunjukkan bahwa diazinon menyebabkan apoptosis melalui jalur intrinsik dan ekstrinsik.



Gambar 2.4 Mekanisme apoptosis sel (Sanz *et al.*, 2008)

## 2.3. Ginjal

### 2.3.1 Definisi

Ginjal adalah salah satu organ ekskresi saluran kemih. Ginjal berbentuk seperti kacang dengan bagian cekung (hilus renalis) menghadap ke medial dan terletak di rongga retroperitoneal bagian atas. Hilus renalis terdapat struktur berupa apeks pelvis renalis, pembuluh darah, sistem limfatik, dan sistem saraf. Pada autopsi klinis rerata ukuran ginjal dewasa memiliki panjang 11,5 cm, lebar 6 cm, dan tebal 3,5 cm dengan berat kurang lebih 0,4% berat badan atau 120-170 gram. Sebagai bagian dari sistem urin, ginjal berfungsi menyaring sisa hasil metabolisme dan toksin dari darah dan membuangnya bersama dengan cairan tubuh dalam bentuk urin (Purnomo, 2007).

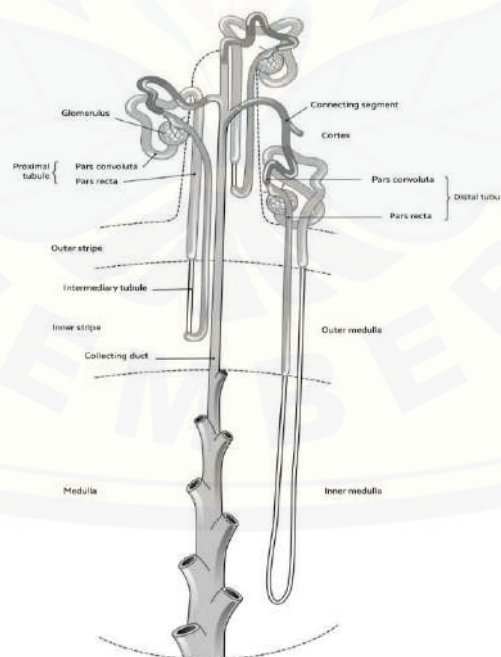
### 2.3.2 Anatomi dan Fisiologi Ginjal

Ginjal ini terletak di rongga peritoneal yang dilapisi oleh kapsula adiposa. Kapsula adiposa dilapisi oleh fascia renalis. Ginjal terdiri dari korteks dan medula. Korteks ginjal terletak superfisial yang mempunyai berjuta-juta struktur nefron



yang merupakan struktur fungsional ginjal. Medula terletak profundus yang diisi oleh struktur saluran yang mengalirkan hasil filtrasi ginjal berupa urin. Nefron terdiri atas glomerulus, tubulus kontortus proksimal, *loop of henle*, tubulus kontortus distalis, dan duktus kolegentes (Purnomo, 2007). Struktur nefron dapat dilihat pada Gambar 2.5.

Ginjal diperdarahi oleh arteri renalis yang berasal dari percabangan langsung aorta abdominalis. Arteri renalis bercabang menjadi anterior dan posterior. Cabang anterior memperdarahi kutub atas, bawah, dan seluruh segmen anterior. Sedangkan cabang posterior memperdarahi segmen medial dan seluruh segmen posterior. Setelah itu arteri masuk menuju parenkim ginjal membentuk arteri arkuata yang berjalan di antara piramid menuju korteks menjadi arteri lobularis. Ginjal dipersarafi oleh pleksus renalis yang berjalan bersama arteri renalis (Purnomo, 2007). Letak ginjal dekat dengan N. iliohipogastrikus dan N. ilioinguinalis sehingga apabila ginjal mengalami inflamasi beberapa penyakit dapat menyebabkan nyeri ke region inguinalis (Paulsen dan Waschke, 2010).



Gambar 2.5 Struktur nefron (Paulsen dan Waschke, 2010)

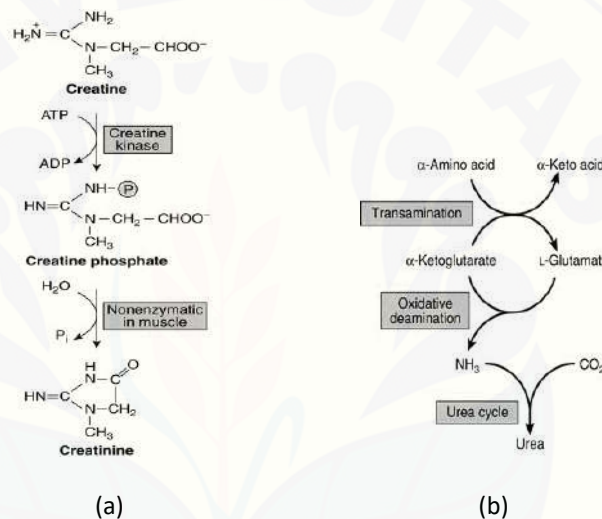
Ginjal mempunyai peran penting dalam proses filtrasi produk metabolisme dan toksin dari darah. Produk-produk metabolisme itu meliputi urea dari katabolisme asam amino, asam urat dari asam nukleat, bilirubin dari pemecahan hemoglobin, dan berbagai metabolit dari aktivitas hormon. Selain itu ginjal juga mengekskresi sebagian besar zat asing dalam tubuh atau zat makanan seperti obat-obatan, zat aditif makanan, dan pestisida (Guyton dan Hall, 2011). Pengontrolan sekresi hormon aldosteron dan *anti diuretic hormone* (ADH) yang mengatur cairan tubuh merupakan fungsi lain dari ginjal. Peran lainnya ialah mengatur hormon eritropoetin untuk pembentukan sel darah merah, metabolisme vitamin D dan ion kalsium, serta menghasilkan renin yang mengatur tekanan darah. Fungsi yang esensial ialah pembentukan urin. Kapiler glomerulus memiliki *porous* yang memungkinkan terjadi filtrasi. Molekul yang relatif kecil seperti air, elektrolit, sisa metabolisme seperti kreatinin dan ureum akan difiltrasi dari darah. Selanjutnya cairan filtrat akan direabsorpsi apabila masih dibutuhkan tubuh, kemudian mengalami sekresi di tubulus ginjal yang kemudian akan menghasilkan urin yang disalurkan melalui duktus kolegentes, sistem kalises hingga ke pelvis renalis (Purnomo, 2007).

#### **2.4 BUN dan Kreatinin**

Volume cairan yang difiltrasi oleh glomerulus setiap satuan waktu disebut *glomerular filtration rate* (GFR). Cairan filtrat tersebut akan direabsorpsi dan beberapa elektrolit akan disekresi di tubulus ginjal yang kemudian akan menghasilkan urin (Purnomo, 2007). Pada umumnya dalam pembentukan urin, reabsorpsi tubulus lebih penting dari ekskresi. Sebagian besar zat yang harus dikeluarkan terutama produk akhir metabolisme seperti urea, kreatinin, asam urat, dan garam-garam diabsorpsi dalam jumlah sedikit dan diekskresi dalam jumlah besar. Sebaliknya elektrolit seperti ion natrium, klorida, dan bikarbonat direabsorpsi dalam jumlah yang besar (Guyton dan Hall, 2011).

Kreatinin merupakan hasil akhir metabolisme kreatin fosfat yang merupakan salah satu sumber energi yang dibentuk di otot melalui proses dehidrasi nonenzimatik *irreversible* dan proses penghilangan gugus fosfat. Kreatinin terjadi

karena adanya proses transaminase asam amino arginin, glisin, dan metionin. Hasil sintesis kreatinin kemudian disirkulasikan ke seluruh tubuh dan diekskresi di ginjal. Sedangkan urea atau BUN merupakan suatu produk akhir asam amino dan produk akhir utama katabolisme nitrogen yang bersifat non toksik (Murray *et al.*, 2014). Secara umum, kadar normal kreatinin pada manusia dewasa yaitu 0,6 - 1,2 mg/dL, sedangkan untuk hewan coba tikus yaitu sebesar 0,38 - 0,8 mg/dL. Kadar normal BUN pada manusia dewasa yaitu 10 - 20 mg/dL, sedangkan untuk hewan coba tikus yaitu 0,57 - 1,12 mg/dL (Pagana *et al.*, 1992; Bihun dan Bauck, 2004). Siklus kreatinin dan urea dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Siklus kreatinin (a) dan urea (b) (Murray *et al.* 2014)

Kreatinin serum dan BUN adalah penanda fungsi ginjal. Kreatinin dianggap sebagai penanda fungsi ginjal yang lebih baik daripada BUN karena kadarnya dalam darah tidak dipengaruhi oleh faktor-faktor non ginjal. Faktor non ginjal tersebut ialah asupan protein dari makanan dan perfusi ginjal merupakan faktor “praginja” yang mempengaruhi kadar BUN. Oleh karena itu kreatinin merupakan indikator fungsi ginjal yang lebih spesifik (Murray *et al.*, 2014).

Jumlah nefron yang rusak sebanding dengan ekskresi kreatinin dan urea, karena ekskresi kreatinin dan urea serum sangat bergantung pada fungsi filtrasi glomerulus. Apabila GFR menurun karena suatu kerusakan glomerulus, maka ekskresi kreatinin dan urea juga akan menurun yang menyebabkan meningkatnya kadar BUN dan kreatinin dalam darah (Guyton dan Hall, 2011). Maka dari itu

pemeriksaan biokimia BUN dan kreatinin dapat mendeteksi dan mengevaluasi adanya kerusakan fungsi pada organ ginjal secara dini sehingga dapat menangani progresifitas penyakit dan pencegahan serta penatalaksanaan lebih awal (Verdiansah, 2016).

## 2.5 Kedelai

### 2.5.1 Definisi

Kedelai merupakan tanaman polong-polongan yang dapat tumbuh tanpa memerlukan air dalam jumlah besar. Kedelai dikenal dengan nama ilmiah *Glycine max* (L.) Merr. (Winarsi, 2010). Gambar kedelai dapat dilihat pada Gambar 2.7.

Klasifikasi tanaman kedelai sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Fabales</i>
Famili	: <i>Fabaceae</i>
Genus	: <i>Glycine</i>
Spesies	: <i>Glycine max</i> (L.) Merr.



Gambar 2.7 Kedelai (Warisno dan Dahana, 2010)

### 2.5.2 Kandungan

Kedelai merupakan sumber protein terbesar pada jenis kacang-kacangan, serta sebagai sumber vitamin A, E, K, dan mineral K, Fe, Zn, P serta beberapa jenis

vitamin B. Pada umumnya kandungan protein pada kacang-kacangan sebesar 20-25% saja, namun kacang kedelai memiliki protein sebesar 40%. Kandungan lemak kedelai sekitar 18-22%. Lemak kedelai didominasi oleh lemak rantai panjang atau lemak tidak jenuh yaitu asam linoleat (C18:1). Selain itu, kedelai memiliki kandungan vitamin E yang cukup tinggi. Kacang kedelai juga memiliki kandungan Omega-3 (asam  $\alpha$ -linoleat) yang mampu mencegah inflamasi, infeksi, dan penggumpalan darah. Selain asam lemak kedelai mengandung lesitin yang memiliki sifat antioksidan. Selain kandungan nutritif, kedelai memiliki kandungan non nutritif seperti isoflavon sebesar 2-4 mg/g kedelai, yang merupakan senyawa fetoprotein berguna untuk pencegahan dan penyembuhan penyakit. Genistein dan daidzein merupakan komponen isoflavon kedelai yang utama (Winarsi, 2010). Komposisi gizi dalam 100 gram kedelai ditunjukkan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Komposisi zat gizi dalam 100 gram kedelai

Komponen Kandungan Gizi	Jumlah
Karbohidrat Kompleks	21
Karbohidrat sederhana	9
Stakiosa (mg)	3300
Rafinosa (mg)	1600
Protein (g)	36
Lemak total (g)	19
SFA ( <i>Saturated Fatty Acids</i> ) (g)	2,8
MUFA ( <i>Mono Unsaturated Fatty Acids</i> ) (g)	4,4
PUFA ( <i>Poly Unsaturated Fatty Acids</i> ) (g)	11,2
Serat tidak larut (g)	10
Serat larut (g)	7
Kalsium (mg)	276
Magnesium (mg)	280
Kalium (mg)	1,797
Besi (mg)	16
Seng (mg)	4,8

Sumber: Aparicio *et al.* (2008)

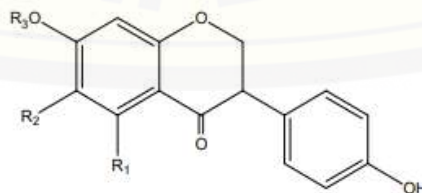
### 2.5.3 Potensi Antioksidan dan Antiapoptosis Kedelai

Vitamin E berperan sebagai antioksidan alami yang dapat meningkatkan imunitas tubuh dan menghambat kerusakan degeneratif sel dan berfungsi sebagai zat gizi mikro (Aminah dan Hersoelityorini, 2012). Vitamin E juga dapat melindungi asam lemak tak jenuh membran sel dan mereduksi peroksidasi lemak

menjadi asam lemak dengan membentuk radikal tokoferoksil yang relatif stabil sehingga menghambat terjadinya autooksidasi lipid (Murray *et al.*, 2014; Niki, 2014). Isoflavon tergolong kelompok flavonoid, senyawa polifenolik yang banyak ditemukan dalam buah-buahan, sayur-sayuran, dan biji-bijian. Menurut Winarsi (2010), isoflavon dan derivatnya memiliki aktivitas antioksidan, antikarsinogenik, antiaterogenik, dan antiosteoporotik. Isoflavon tersebut memiliki beberapa aktivitas biokimia antara lain menghambat aktivitas protein tirosin kinase, bekerja sebagai antioksidan, memodulasi *transforming growth factor- $\beta$* , menghambat DNA topoisomerase II, berpotensi sebagai estrogen lemah, secara invitro menghambat aktivitas sel-T, dan secara invivo bersifat imunospesif intraperitoneal.

Antioksidan merupakan suatu molekul atau senyawa yang dapat menekan aktivitas radikal bebas dengan mencegah terjadinya oksidasi sel. Antioksidan termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam yang bersifat menghambat oksidasi sel. Antioksidan dapat mencegah kerusakan DNA akibat reaksi oksidasi di dalam tubuh. Mekanisme pertahanan tubuh terhadap oksidasi sel yaitu dengan adanya antioksidan enzimatis seperti enzim SOD, enzim katalase, GPx, dan antioksidan non enzimatis (Ma *et al.*, 2015).

Evans *et al.* (2011), mengatakan bahwa tiga isoflavon utama di kedelai ialah genistein (4',5,7-trihydroxyisoflavone), daidzein (4',7-dihydroxyisoflavone), dan glycitein (7,4'-dihydroxy-6-methoxyisoflavone). Genistein, daidzein, dan glycitein menunjukkan kurang-lebih 50, 40, dan 10% dari total isoflavon yang terdapat di kacang kedelai. Hal itu diperkuat berdasarkan Winarsi (2010), menyatakan bahwa kadar isoflavon dalam kedelai sebesar 2-4 mg/g kedelai. Struktur isoflavon ditunjukkan pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Struktur dasar isoflavon (Atun, 2009)

Kerusakan sel akibat mekanisme kerusakan DNA yang disebabkan stres oksidatif, termasuk ROS, pada umumnya diketahui dengan adanya sistem *check*

*point* pada siklus sel fase S atau M dengan cara memperlama waktu *check point*. Dengan memperlama *check point* memungkinkan sel untuk melakukan perbaikan. Namun apabila kerusakan terlalu parah, sel akan mengalami apoptosis. Radikal bebas seperti ROS menyebabkan kerusakan DNA dan menginduksi gangguan *check point* fase M yang berujung pada apoptosis. Proses tersebut dapat dihentikan oleh isoflavon genistein yang memiliki sifat meregulasi siklus sel dan menurunkan apoptosis sel (Choi *et al.*, 2003; Ma *et al.*, 2015). Menurut penelitian Adam *et al.* (2012), menyatakan bahwa daidzein dan genistein memiliki aktivitas menurunkan aktivitas protein Bax yang merupakan pro-apoptosis mitokondria. Hal ini menunjukkan bahwa isoflavon daidzein dan genistein memiliki sifat menghambat sinyal apoptosis Bax yang dapat mengganggu permeabilitas mitokondria sehingga tidak terjadi proses apoptosis sel.

## **2.6 Tepung Kedelai**

### **2.6.1 Definisi**

Tepung kedelai ialah tepung yang dibuat dari bahan kacang kedelai dengan cara dikeringkan kemudian dihaluskan dan diayak sampai didapatkan sediaan tepung kedelai yang halus (Cahyani *et al.* 2012). Tepung kedelai dapat dibuat dari kedelai utuh atau kedelai berkulit ari. Bentuk olahan ini dapat digunakan sebagai pengental dan produk pangan lain. Bentuk olahan tepung kedelai memiliki sifat kandungan air tinggi dan tanpa gluten (Winarsi, 2010).

Tepung kedelai cukup sering digunakan sebagai bahan makanan campuran pada makanan seperti kue basah, roti, kue kering, donat, sosis, dan produk olahan pangan lainnya seperti makanan bayi, biskuit, dan susu kedelai (Warisno dan Dahana, 2010). Tepung kedelai menjadi pilihan olahan kedelai karena memiliki keunggulan dari bentuk olahan lain yaitu kandungan protein lebih tinggi, menghilangkan cita rasa langu pada kedelai, dan meningkatkan keawetan. Oleh karena itu proses penepungan menjadi alternatif pengolahan untuk memperpanjang daya tahan dan daya guna tepung kedelai (Astawan dan Hazmi, 2016).

## 2.6.2 Kandungan

Berbagai kandungan kacang kedelai dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Analisis proksimat kacang kedelai

Komposisi	Kadar
Protein	34,39 g %
Lemak	25,53 g %
Karbohidrat	38,19 g %
Air	10,77 g %
Abu	3,49 g %
Serat	2,915 g %

Sumber: Aminah & Hersoelistyorini (2012)

Menurut Sitasiwi (2009), jumlah komponen genistein dan daidzein dalam tepung kedelai berkisar 3,4 mg/100 g. Pada penelitian Aminah dan Hersoelistyorini (2012), kandungan vitamin E pada tepung kedelai lebih tinggi dari tepung jagung, tepung beras, tepung kacang hijau ataupun kacang tolo, yaitu sekitar 525,0528 - 793.0094 mg %. Vitamin E berupa tokoferol menghambat peroksidasi lipid dengan mengikat ROS dan bertindak sebagai pemutus rantai reaksi autooksidasi lipid (Kamal dan Appelqvist, 1996). Tokoferol merupakan antioksidan primer yang bekerja dengan menjadi donor ion hidrogen bagi radikal bebas (Wresdiyati *et al.*, 2009). Penelitian Aminah dan Hersoelistyorini (2012), menyatakan bahwa tepung kedelai memiliki kandungan fenol yang tinggi yang merupakan komponen fungsional antioksidan. Komposisi kimia tepung kacang-kacangan dengan perlakuan variasi *blanching* tersaji pada Tabel 2.5.

Tabel 2.5 Analisis tepung kecambah

Jenis Tepung dan Perlakuan <i>Blanching</i>	KA (%)	Protein (g %)	Lemak (g %)	Vit. C (mg %)	Vit. E (mg %)	Serat (%)	Total fenol (ppm)
Beras rebus	4,5	7,97	1,443	15,99	544,4666	12,22	757,14
Beras sangria	6,7	8,025	1,433	15,98	552,8371	14,64	953,77
Jagung rebus	6,39	5,98	3,998	15,97	605,8901	18,84	2323,02
Jagung sangria	7,14	5,99	4,18	15,98	647,9923	13,86	2409,92
Kedelai rebus	3,53	37,45	19,08	27,94	525,0528	30,04	2505,16
Kedelai sangria	5,3	37,39	18,51	27,94	793,0094	25,3	3143,65
Kacang hijau rebus	6,23	19,36	4,295	15,97	425,3145	12,31	984,52
Kacang hijau sangrai	7,92	19,54	4,485	23,78	451,0262	18,54	1496,83

Sumber: Aminah dan Hersoelistyorini (2012)



Penelitian yang dilakukan oleh Ebuehi dan Okafor (2015), menyatakan bahwa pemberian roti yang terbuat dari tepung kedelai dan gandum selama 28 hari menunjukkan peningkatan *reduced glutathione* (GSH), *superoxide dismutase* (SOD), *Catalase* (CAT), dan *Malondialdehyde* (MDA) pada tikus wistar jantan. Bhagwat *et al.* (2008), dalam “*USDA Database for the Isoflavone Content of Selected Foods*” menyatakan bahwa kandungan isoflavon tertinggi kacang kedelai terdapat pada sediaan tepung. Kandungan isoflavon pada setiap sediaan dapat dilihat pada Tabel 2.5.

Tabel 2.6 Kadar isoflavon pada 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, raw</i>	178,10
7	<i>Soy flour (defatted)</i>	150,94
8	<i>Crackers</i>	0,01
9	<i>Soy yogurt</i>	33,17
10	<i>Soy cheese</i>	6,87

Sumber: Bhagwat *et al.* (2008)

### 2.6.3 Metode Penepungan

Penepungan merupakan salah satu teknologi pangan sebagai proses alternatif suatu produk menjadi bahan setengah jadi yang mudah dicampur atau dibuat komposit, lebih tahan disimpan, diperkaya zat gizi atau difortifikasi, dan mudah diolah menjadi bentuk lain (Resmisari, 2006). Metode penepungan akan mempengaruhi komposisi tepung kedelai yang akan berpengaruh terhadap mutu tepung kedelai yang dihasilkan. Tahapan pembuatan tepung kedelai ialah proses perendaman, pembersihan, penirisan, pengeringan, penggilingan atau penumbukan, pengayakan, pengemasan, dan penyimpanan (Rani *et al.* 2017).

Bau langu merupakan suatu masalah dalam pengolahan kedelai. Bau langu ini terjadi karena adanya antitripsin dan enzim lipoksidase pada kedelai yang menghidrolisis lemak kedelai menjadi senyawa yang berbau langu. Oleh karena itu dalam proses penepungan kedelai, pemanasan kedelai menjadi tahap yang penting.

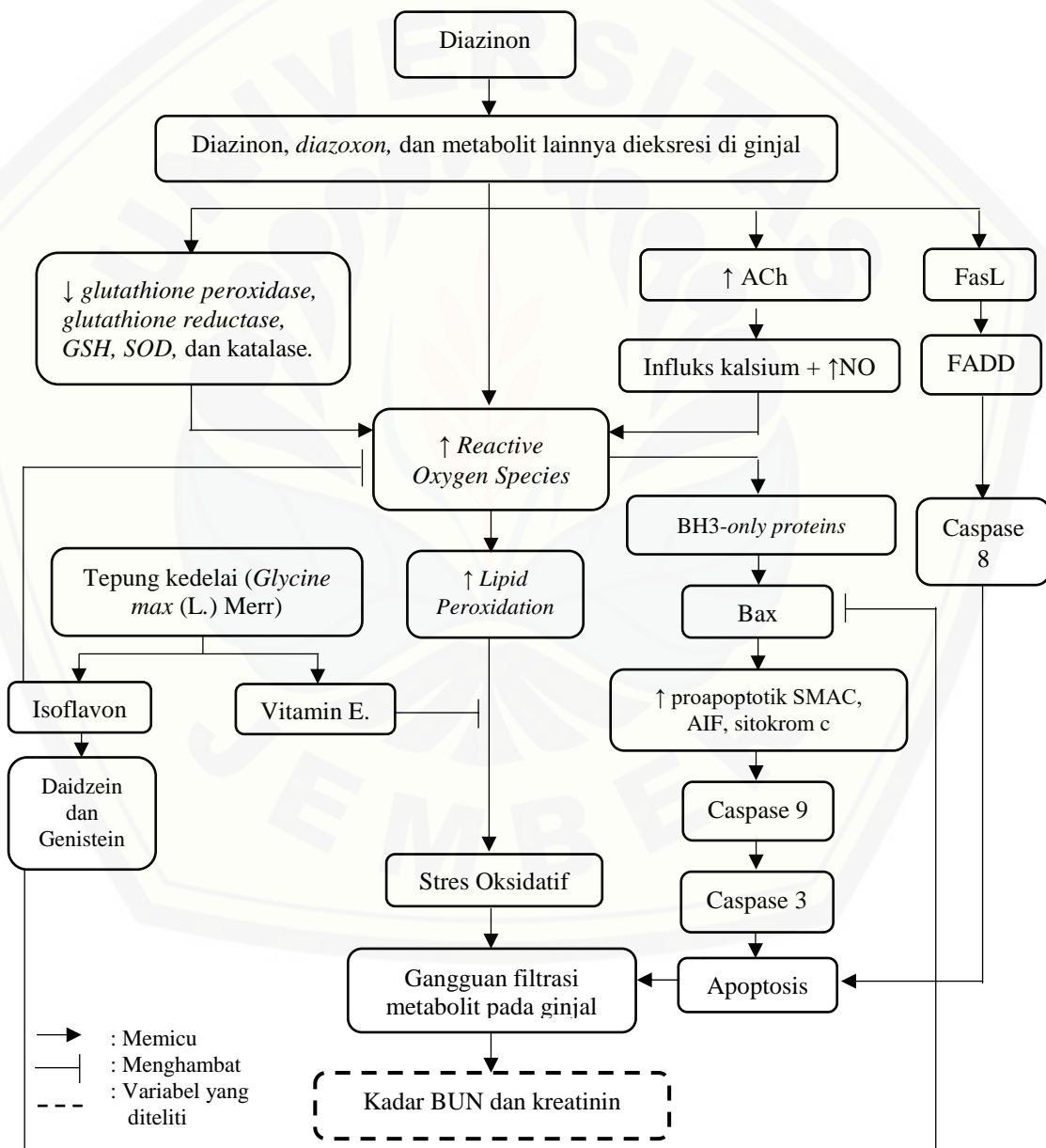
Proses pemanasan kedelai menyebabkan antitripsin tereduksi dan enzim lipoksigenase tidak aktif sehingga tepung yang dihasilkan bernilai gizi tinggi dan tidak berbau langu. Masalah lain dari kedelai ialah kandungan lektin atau hemaglutinin yang banyak ditemukan dalam kacang-kacangan. Pemberian hemaglutinin pada hewan coba menyebabkan penggumpalan eritrosit. Untuk menghindari proses penggumpalan eritrosit oleh hemaglutinin dapat dilakukan dengan proses pemanasan kedelai. Pengayakan dilakukan dengan ukuran 80 mesh dua kali pengulangan agar didapatkan tepung kedelai yang halus dan optimal (Koswara, 2009).

Secara umum proses membuat tepung dibagi menjadi dua metode yaitu metode kering dan metode basah. Perbedaan keduanya terletak pada ada tidaknya proses perendaman bahan. Pada metode kering bahan tidak direndam sebelum ditepungkan, sedangkan pada metode basah dilakukan perendaman bahan sebelum ditepungkan (Suardi *et al.*, 2002). Penepungan dengan metode basah lebih aplikatif di masyarakat. Pada metode basah, kedelai direndam untuk proses sortasi memisahkan bahan kedelai yang baik dan kurang baik serta untuk memisahkan dari benda asing. Selain itu perendaman dapat melepaskan kulit kedelai sehingga kandungan seratnya dapat terpisah. Hal tersebut perlu dilakukan karena serat kulit kedelai menyebabkan tepung menjadi kasar (Widyanti *et al.*, 2012). Penepungan dengan metode basah menghasilkan rendaman tepung lebih tinggi dibandingkan metode kering (Suarni dan Firmansyah, 2005). Namun, nutrisi yang terkandung dalam tepung hasil pengolahan metode kering lebih tinggi dibandingkan dengan pengolahan metode basah. Hal tersebut disebabkan selama proses perendaman memungkinkan terjadinya hidrolisis polimer yang menyebabkan perubahan komponen kimia tepung (Ryan, 2010).

Proses penepungan kedelai dimulai dengan disortasi kemudian dilakukan perendaman dan perebusan. Setelah itu, kedelai ditiriskan dan dipisahkan kulitnya. Kedelai yang telah terpisah dari kulitnya dikeringkan dengan dijemur atau menggunakan oven dan digiling halus sehingga diperoleh tepung kedelai yang siap dikemas (Koswara, 2009). Pada penelitian Rani (2017), menyatakan bahwa proses perendaman kedelai sebaiknya direndam dalam waktu 3 jam, karena tepung kedelai

yang dihasilkan memiliki kandungan protein yang lebih tinggi daripada perendaman dengan waktu lebih dari 3 jam. Menurut Pratama (2008), proses penepungan dengan metode basah memiliki keuntungan yaitu mudahnya mendapatkan tepung dengan tingkat kehalusan tinggi dan memperkecil kerugian akibat oksidasi bahan olahan tepung.

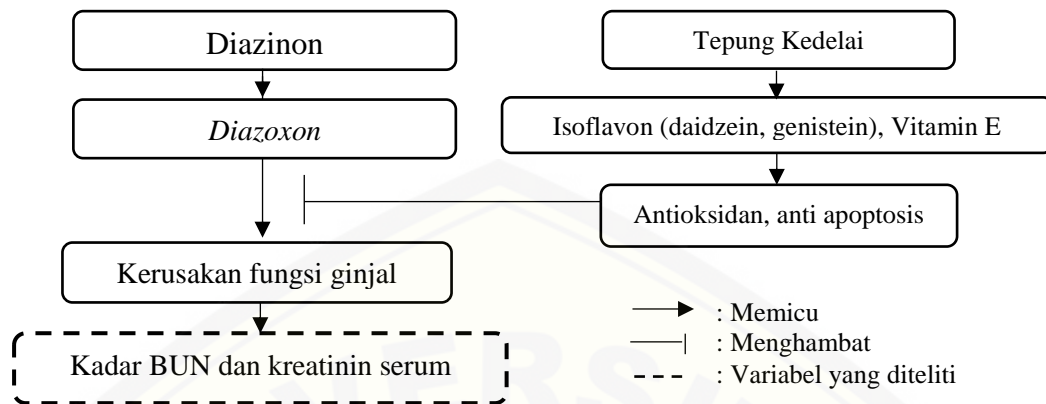
## 2.7 Kerangka Teori



Diazinon merupakan pestisida sintetis golongan organofosfat. Diazinon diubah menjadi *diazoxon* yang merupakan metabolit toksik yang diekskresi di ginjal dan berpotensi merusak fungsi ginjal. *Diazoxon* berikatan dengan GSH yang mengganggu fungsi kerja dan menurunkan kadar GSH. Selain itu *diazoxon* menyebabkan akumulasi ROS yang menginduksi peroksidasi lemak. Berkurangnya GSH dan meningkatnya ROS menjadi suatu mekanisme yang mengganggu fungsi sel yang dapat berujung pada keadaan stres oksidatif.

*Diazoxon* menyebabkan sel mengalami keadaan stres dengan menghambat AChE yang meningkatkan Ach tetap pada reseptornya. Hal tersebut menyebabkan influks kalsium dan meningkatkan NO yang berujung pada peningkatan ROS. Peningkatan ROS ini akan memicu *BH3-only protein* mengaktivasi alosterik Bax dan/atau Bak dan mengganggu permeabilitas mitokondria. Mekanisme apoptosis jalur intrinsik melibatkan pengeluaran faktor proapoptotik seperti sitokrom c, SMAC, dan AIF. Faktor tersebut menyebabkan aktivasi caspase 9 yang kemudian akan mengaktifkan caspase 3 dan enzim proteolitik hingga terjadi apoptosis sel. Mekanisme apoptosis jalur ekstrinsik melibatkan FasL yang memicu apoptosis dengan mengaktifkan caspase 8 melalui FADD yang kemudian akan mengaktifkan caspase 3 hingga terjadi apoptosis sel. Vitamin E pada kedelai dapat menghambat proses autooksidasi lipid dari proses peroksidasi lipid dengan cara membentuk radikal tokoferoksil yang relatif stabil. Isoflavon dalam tepung kedelai merupakan antioksidan yang dapat mencegah akumulasi ROS yang bekerja dengan mendonorkan elektron dan hidrogen. Selain itu isoflavon pada tepung kedelai juga memiliki aktivitas anti apoptosis. Daidzein dan genistein pada isoflavon memiliki sifat penghambatan aktifitas Bax sehingga dapat memotong jalur apoptosis sel.

## 2.8 Kerangka Konsep



Diazinon akan diubah menjadi metabolit aktif berupa *diazoxon* di hepar yang kemudian akan beredar di pembuluh darah. Salah satu organ yang rusak karena pestisida diazinon ialah organ ginjal. Diazinon akan menyebabkan penghambatan enzim AChE sehingga membuat kondisi stres oksidatif pada sel dan mengarah pada apoptosis sel. Saat organ ginjal terkena efek radikal bebas seperti ROS maka akan mengalami kerusakan fungsi ginjal yang ditandai dengan peningkatan kadar BUN dan kreatinin serum. Tepung kedelai menjadi alternatif pengolahan kedelai yang dapat mengoptimalkan potensi kedelai sebagai antioksidan. Metode penepungan basah dapat mempertahankan aktivitas antioksidan dari isoflavon dan vitamin E kedelai serta anti apoptosis dari daidzein dan genistein sehingga dapat memproteksi fungsi ginjal dari kerusakan akibat induksi diazinon.

## 2.9 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini ialah sebagai berikut.

1. Pemberian tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) dapat mencegah kerusakan ginjal tikus wistar yang diinduksi diazinon dilihat dari kadar BUN.
2. Pemberian tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) dapat mencegah kerusakan ginjal tikus wistar yang diinduksi diazinon dilihat dari kadar kreatinin serum.

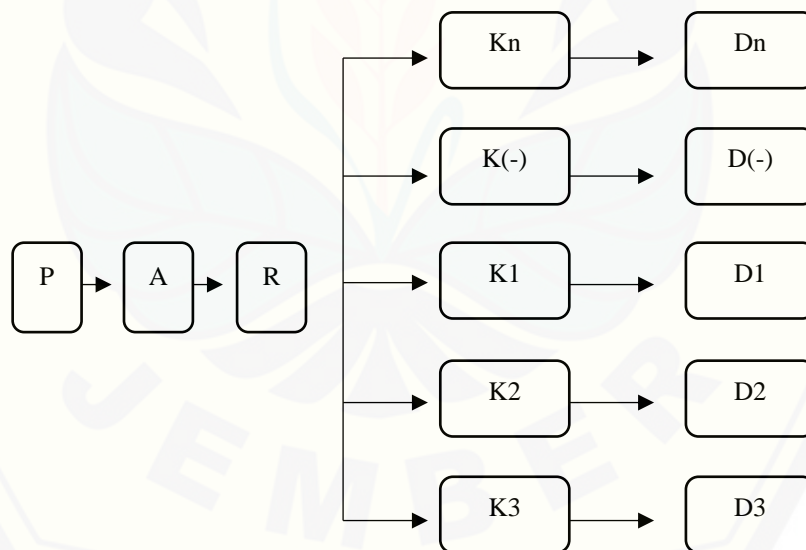
### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *quasi experimental laboratories*. Hal tersebut karena peneliti tidak dapat mengontrol sepenuhnya variabel pengganggu yang mempengaruhi penelitian. Pemilihan kelompok pada penelitian ini dilakukan secara random dan terdapat kelompok pembanding (Levy dan Ellis, 2011).

#### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan *post test only control group design*. Pada penelitian ini, penilaian ditujukan pada *post test*. *Post test* dilakukan setelah perlakuan tepung kedelai dan diazinon. Hasil penelitian dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Skema rancangan penelitian secara sistematis dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

- |  |  |
|--|--|
| P : Populasi                               | K3 : Kelompok kedelai 20% dan diazinon |
| A : Adaptasi (7 hari)                      | Dn : Fungsi ginjal Kn                  |
| R : Randomisasi                            | D(-) : Fungsi ginjal K(-)              |
| Kn : Kelompok kontrol normal               | D1 : Fungsi ginjal K1                  |
| K(-) : Kelompok kontrol negatif (diazinon) | D2 : Fungsi ginjal K2                  |
| K1 : Kelompok kedelai 10 % dan diazinon    | D3 : Fungsi ginjal K3                  |
| K2 : Kelompok kedelai 15 % dan diazinon    |  |

### 3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.3.1 Populasi

Populasi penelitian ialah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diperoleh dari peternakan tikus Wistar Farm di Kota Malang. Berikut kriteria inklusi dan kriteria eksklusi yang menunjukkan kelayakan sampel digunakan.

a. Kriteria Inklusi

Tikus wistar jenis kelamin jantan, bergerak aktif, usia lebih kurang 3 bulan dengan berat 150-300 gram, dan belum pernah mendapat perlakuan dalam penelitian.

b. Kriteria Eksklusi

Tikus yang menunjukkan perilaku tidak normal atau tidak lincah.

#### 3.3.2 Sampel

Pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan teknik *simple random sampling* dari populasi kemudian dibagi menjadi 5 kelompok. Jumlah besar sampel dihitung dan ditentukan berdasarkan rumus Federer (1955), yaitu:

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

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

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

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 4,75$$

$$r \approx 5$$

Jumlah kelompok perlakuan ditandai dengan huruf t dan banyaknya replikasi atau jumlah sampel dalam setiap kelompok ditandai dengan huruf r. Dari hasil perhitungan dengan rumus Federer tersebut, maka sampel yang digunakan tiap kelompok sebanyak 5 ekor ( $r \geq 4,75$ ). Jumlah kelompok pada penelitian ini ialah 5 kelompok sehingga jumlah sampel hewan coba tikus sebanyak 25 ekor.

Untuk mengantisipasi kemungkinan jumlah proporsi *drop out* hewan coba seperti hilang atau mati pada saat penelitian, maka dilakukan penghitungan besar sampel koreksi dengan rumus sebagai berikut.

$$N = n/(1-f)$$

$$N = 5/(1-10\%)$$

$$N = 5/(1-0,1)$$

$$N = 5/0,9$$

$$N = 5,56$$

$$N \approx 6$$

Huruf N menunjukkan besar sampel koreksi, n menunjukkan besar sampel awal, dan f menunjukkan perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10%. Hasil penghitungan besar sampel dalam kelompok ialah sebanyak 6 ekor ( $N = 5,56$ ). Jumlah kelompok pada penelitian ini ialah 5 kelompok, maka dari itu penelitian ini menggunakan tikus sebanyak 30 ekor.

### 3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember untuk pembuatan tepung kedelai, Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan tikus, dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeriksaan BUN dan kreatinin darah tikus. Waktu pelaksanaan selama 47 hari.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

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

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini ialah kadar BUN dan kreatinin sebagai gambaran fungsi ginjal tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*)

#### 3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini ialah sebagai berikut.

1. Jenis kelamin tikus



2. Usia tikus
3. Berat badan tikus
4. Pemeliharaan dan perlakuan tikus
5. Waktu dan lama perlakuan tikus
6. Dosis, frekuensi, dan rute pemberian tepung kedelai dan diazinon

### 3.6 Definisi Operasional

#### 3.6.1 Tepung Kedelai

Tepung kedelai ialah hasil pengolahan kedelai menjadi sediaan tepung dari spesies *Glycine max* (L.) Merr. varian Baluran yang didapat di Pasar Tanjung, Jember. Metode penepungan tepung kedelai yang digunakan yaitu metode basah. Tepung kedelai yang digunakan dibuat di Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Tepung kedelai diberikan setelah adaptasi dan randomisasi yaitu pada hari ke-8 sampai hari ke-35. Tepung kedelai diberikan kepada tikus setiap dua kali dalam satu hari pada pagi dan sore hari selama 28 hari dengan dosis berat per volume sebesar 10%, 15%, dan 20% sebanyak 5 mL yang dilarutkan dalam akuades dan diberikan pada tikus peroral (*force feeding*).

#### 3.6.2 Blood Urea Nitrogen (BUN)

Kadar BUN merupakan hasil pemeriksaan biokimia urea darah untuk mengevaluasi kerusakan fungsi ginjal. Gangguan fungsi ginjal dapat ditunjukkan dengan adanya peningkatan kadar BUN dalam darah. Pemeriksaan BUN dikerjakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pemeriksaan BUN dikerjakan dengan metode Urease-GLDH (*Glutamate dehydrogenase enzymatic UV test*) dengan reagen kit DiaSys yang diperiksa menggunakan Biolyzer 100 dengan panjang gelombang 340 nm. Hasil pemeriksaan BUN dinyatakan dengan satuan mg/dL yang merupakan jenis skala data rasio.

### 3.6.3 Kreatinin

Kadar Kreatinin merupakan hasil pemeriksaan biokimia kreatinin untuk mengevaluasi kerusakan fungsi ginjal. Gambaran berat ringannya gangguan fungsi ginjal dapat ditunjukkan dengan tinggi rendahnya kadar kreatinin dalam darah (Widhyari dan Esfandiari, 2015). Pemeriksaan kreatinin dikerjakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pemeriksaan kreatinin dilakukan dengan metode tes kinetik tanpa deproteinasi berdasarkan metode Jaffe dengan reagen kit DiaSys yang diperiksa menggunakan Biolyzer 100 dengan panjang gelombang 492 nm. Hasil pemeriksaan kreatinin dinyatakan dengan satuan mg/dL yang merupakan jenis skala data rasio.

### 3.6.4 Diazinon

Diazinon adalah pestisida golongan organofosfat yang digunakan untuk membasmi serangga yang mengganggu pertumbuhan tanaman. Dosis diazinon yang diinduksikan pada penelitian yaitu 40 mg/kgBB. Diazinon diberikan satu kali sehari selama 5 hari pada tikus secara peroral setelah pemberian tepung kedelai yaitu pada hari ke-36 sampai hari ke-40. Diazinon yang digunakan ialah Diazinon 600 EC bentuk cairan 600 g/L, yang didapatkan di toko pertanian Pasar Tanjung, Jember, hasil produksi PT. Petrokimia Kayaku Gresik yang dilarutkan dalam *corn oil* dengan nama merk Mazola untuk mendapatkan dosis yang diinginkan.

## 3.7 Alat dan Bahan Penelitian

### 3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini ialah sebagai berikut.

- a. Alat-alat pemeliharaan tikus terdiri dari bak plastik, kawat penutup bak, botol minum, dan label kandang.
- b. Alat-alat pembuatan tepung terdiri dari ayakan 80 mesh, oven, timbangan, ember plastik, mesin penggiling atau mesin tepung, kantong plastik, dan loyang.
- c. Alat-alat pemberian tepung terdiri dari *beaker glass*, pengaduk, spuit, sonde, timbangan, dan *handscoon*.

- d. Alat-alat pemberian diazinon terdiri dari *beaker glass*, pengaduk, spuit, sonde, dan *handscoon*.
- e. Alat-alat pengambilan darah tikus terdiri dari toples, papan fiksasi, pisau bedah, spuit, dan *handscoon*.
- f. Alat untuk mengukur kadar BUN dan kreatinin serum terdiri dari *centrifuge*, tabung *centrifuge*, spektrofotometer, vortex, rak, mikropipet, mikrotip, *microtube*.

### 3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah sebagai berikut.

- a. Bahan pemeliharaan tikus terdiri dari makanan pelet, air, dan sekam.
- b. Bahan pembuatan tepung kedelai ialah kedelai lokal
- c. Bahan penyondean ialah tepung kedelai, akuades, diazinon, *corn oil*, dan normal salin.
- d. Bahan untuk pengukuran kadar BUN dan kreatinin terdiri dari serum darah tikus, akuades, reagensia BUN (reagen 1 terdiri dari TRIS, 2-*Oxoglutarate*, ADP, urease, dan *glutamate dehydrogenase* (GLDH) dan reagen 2 yaitu *nicotinamide adenine dinucleotide + hydrogen* (NADH)), dan reagensia kreatinin (reagen 1 yaitu *sodium hydroxide* dan reagen 2 yaitu *picric acid*).

## 3.8 Prosedur Penelitian

### 3.8.1 Uji Kelayakan Etik

Untuk menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba, melindungi hewan coba, serta memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti, maka pelaksanaan penelitian harus mendapat persetujuan kelayakan etik. Penelitian ini telah mendapat persetujuan komisi etik yang berada di lingkungan Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Lembar Keterangan Persetujuan Etik dapat dilihat pada Lampiran 3.1. Penelitian ini juga dilakukan uji plagiasi, hasil uji dinyatakan pada Surat Rekomendasi KOMBI pada Lampiran 3.2.

### 3.8.2 Pemilihan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini ialah tikus jantan karena relatif lebih kuat, tidak dipengaruhi aktivitas hormonal, dan tidak terganggu oleh kehamilan. Usia tikus ialah kurang lebih 3 bulan. Ditentukan usia kurang lebih 3 bulan karena pada usia tersebut hewan coba telah matur. Berat badan tikus dalam penelitian ini berkisar 150-300 gram karena merupakan berat badan ideal dengan luas permukaan besar dan agar diperoleh sejumlah darah yang diinginkan peneliti. Jumlah hewan coba sebanyak 25 ekor tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi 5 kelompok secara random.

### 3.8.3 Adaptasi Hewan Coba

Perawatan hewan coba di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember dimulai dengan mengadaptasikan tikus selama 7 hari sehingga tikus dapat beradaptasi terhadap lingkungan baru. Hewan coba dipelihara dalam sebuah kandang dengan ukuran panjang 45 cm, lebar 30 cm, dan tinggi 20 cm beralaskan sekam atau serbuk kayu kering. Masing-masing kandang terdapat satu ekor hewan coba dengan makanan pelet dan air minum. Makanan dan minuman diberikan disetiap kandang menggunakan alat minum tikus dan tempat makan secara *ad libitum*.

### 3.8.4 Pembagian Kelompok Perlakuan

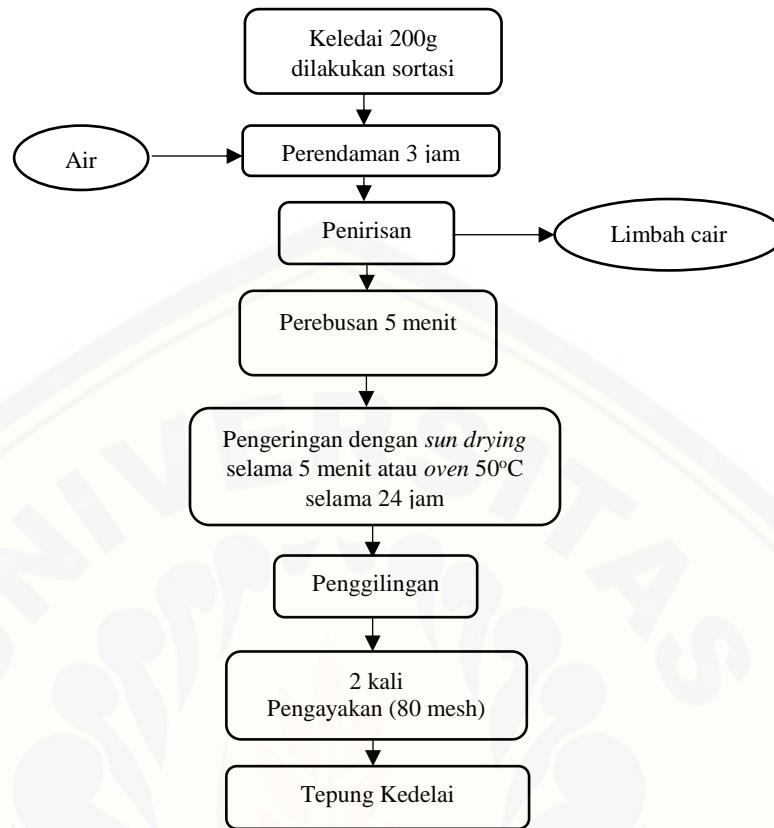
Sampel penelitian dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok diberi perlakuan berbeda. Perlakuan hewan coba dilakukan selama 33 hari yang terdiri dari 28 hari pemberian tepung kedelai dan 5 hari diinduksi dengan diazinon dan sebelumnya telah dilakukan adaptasi selama 7 hari (Ebuehi dan Okafor, 2015). Pembagian kelompok tikus secara rinci dapat dilihat pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan

Nama Kelompok	Perlakuan yang diberikan
Kelompok K <sub>n</sub>	Diberikan perlakuan normal salin
Kelompok K <sub>(-)</sub>	Pemberian normal salin per oral pada hari ke-8 selama 28 hari dan induksi diazinon 40mg/kgBB peroral pada hari ke-36 selama 5 hari
Kelompok K <sub>1</sub>	Pemberian tepung kedelai 10% per oral pada hari ke-8 selama 28 hari dan induksi diazinon 40mg/kgBB per oral pada hari ke-36 selama 5 hari
Kelompok K <sub>2</sub>	Pemberian tepung kedelai 15% per oral pada hari ke-8 selama 28 hari dan induksi diazinon 40mg/kgBB per oral pada hari ke-36 selama 5 hari
Kelompok K <sub>3</sub>	Pemberian tepung kedelai 20% per oral pada hari ke-8 selama 28 hari dan induksi diazinon 40mg/kgBB per oral pada hari ke-36 selama 5 hari

### 3.8.5 Pembuatan Tepung Kedelai

Proses pembuatan tepung didahului determinasi tanaman oleh tim kelompok penelitian di Laboratorium Argonomi Fakultas Pertanian Universitas Jember. Lembar determinasi tanaman dapat dilihat pada Lampiran 3.3. Pembuatan tepung kedelai dilakukan di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Proses pembuatannya dimulai dengan pemilihan dan penyortiran biji kedelai. Penyortiran ini untuk mendapatkan biji kedelai baik, sehingga tepung yang dihasilkan akan memiliki kualitas yang baik. Setelah proses penyortiran dilanjutkan dengan proses perendaman kedelai dalam air bersih. Air rendaman kedelai diganti setiap 1-1,5 jam sekali. Setelah itu, ditiriskan dan dilakukan perebusan. Kemudian dilanjutkan pengeringan. Setelah diperoleh kedelai kering, dilakukan penggilingan dan dilanjutkan dengan pengayakan menggunakan ayakan 80 mesh dua kali pengulangan untuk memperoleh tepung kedelai yang lebih optimal (Warisno dan Dahana, 2010). Langkah-langkah pembuatan tepung kedelai secara rinci dapat dilihat pada Lampiran 3.4. Skema pembuatan tepung kedelai terdapat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema pembuatan tepung kedelai

#### 3.8.4 Pemberian Tepung Kedelai

Penelitian ini diberikan dosis tepung kedelai sebanyak 10%, 15%, dan 20% melalui sonde lambung selama 28 hari setelah adaptasi selama 7 hari pada masing-masing kelompok. Pembuatan dosis tersebut dilakukan dengan melarutkan 1, 1,5, dan 2 gram tepung kedelai masing-masing dalam 10 mL akuades untuk mendapat dosis yang diinginkan. Tepung kedelai dilarutkan ke dalam akuades dan diberikan pada kelompok perlakuan 1, 2, dan 3. Tepung kedelai yang diberikan sebanyak 10 mL dengan dosis 10%, 15%, dan 20%. Menurut Suhardjono (1995), kapasitas maksimal lambung tikus adalah 5 mL, sehingga tepung kedelai diberikan 2 kali dalam sehari yaitu pada pagi dan sore. Tabel volume maksimal pemberian perlakuan sediaan larutan pada hewan coba dapat dilihat pada Lampiran 3.5.

### 3.8.5 Penginduksian Diazinon

Pemberian diazinon 40 mg/KgBB pada tikus selama 5 hari sudah menunjukkan dapat menyebabkan kongesti, piknosis, dan nekrosis jaringan (Wulandari *et al.*, 2007). Pada penelitian ini diazinon diberikan dengan dosis 40 mg/KgBB yang dilarutkan dalam *corn oil* untuk mendapatkan dosis induksi yang diinginkan, karena memiliki kelarutan yang tinggi dalam lemak dan kelarutannya rendah dalam air (Moshiri *et al.*, 2013). Tabel pemberian dosis diazinon pada hewan coba dapat dilihat pada Lampiran 3.6.

### 3.8.6 Terminasi Hewan Coba

Setelah perlakuan selama 33 hari selesai, tikus diterminasi sesuai dengan cara yang diatur dalam etik penggunaan hewan coba. Terminasi dilakukan dengan menganestesi tikus menggunakan eter. Setelah itu dilakukan pengambilan sampel darah dan disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan serum (Mardani *et al.*, 2014). Langkah-langkah terminasi hewan coba dapat dilihat pada Lampiran 3.7.

### 3.8.7 Pemeriksaan Fungsi Ginjal (BUN dan Kreatinin)

Pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin menggunakan metode *Enzymatic photometric*. Pemeriksaan dilakukan pada serum hasil sentrifugasi. Pemeriksaan BUN dan kreatinin dilakukan dengan cara sebagai berikut.

#### a. BUN

Pemeriksaan urea serum dilakukan dengan metode Urease-GLDH (*Glutamate dehydrogenase enzymatic UV test*). Reagen yang digunakan ialah reagen 1 (terdiri dari TRIS, 2-Oxoglutarate, ADP, urease, dan *glutamate dehydrogenase* (GLDH)) dan reagen 2 (terdiri dari *nicotinamide adenine dinucleotide + hydrogen* (NADH)). Langkah-langkah pemeriksaan biokimia kadar BUN secara rinci dapat dilihat pada Lampiran 3.8.

b. Kreatinin

Pemeriksaan kreatinin dilakukan dengan metode tes kinetik tanpa deproteinasi berdasarkan metode Jaffe. Prinsip pemeriksaannya ialah kreatinin membentuk kompleks warna jingga-merah dalam larutan pikrat alkali. Pemeriksaan kadar kreatinin menggunakan reagen 1 (*Sodium Hydroxide*) dan reagen 2 (*Picric Acid*). Langkah-langkah pemeriksaan biokimia kadar kreatinin serum secara rinci dapat dilihat pada Lampiran 3.9.

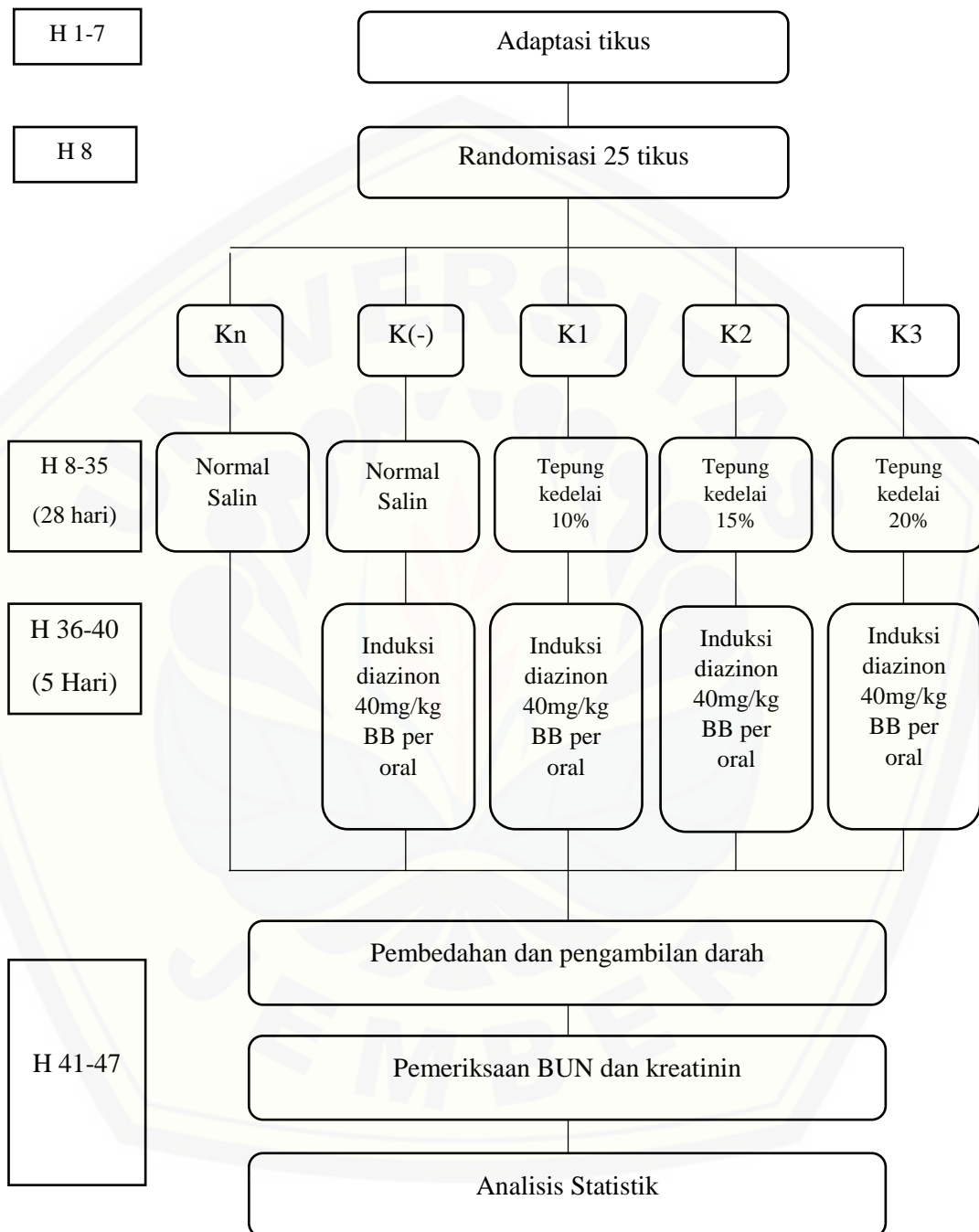
### 3.9 Analisis Data

Analisis data menggunakan aplikasi SPSS 16. Uji statistik penelitian ini menggunakan uji komparasi. Jumlah sampel pada penelitian ini  $< 50$ , maka untuk mengetahui normalitas data menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan untuk mengetahui homogenitas menggunakan uji *Lavene*. Apabila data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *One Way Annova* ( $p < 0,05$ ). Apabila data yang didapatkan terdistribusi tidak normal dan tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*. Jika hasilnya signifikan ( $p < 0,05$ ) dilanjutkan dengan *post hoc test*.



### 3.10 Alur Penelitian

Skema penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abdollahi, M., A. Ranjbar, S. Shadnia, S. Nikfar, dan A. Rezaiee. 2004. Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor*. 10(6): 141-147.
- 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): 1-9.
- Akturk, O., H. Demirin, R. Sutcu, N. Yilmaz, H. Koylu, dan I. Altuntas. 2006. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat heart and ameliorating role of vitamin E and vitamin C. *Cell Biology and Toxicology*. 22(6): 455-461.
- 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., A. A. Alrobai, dan D. A. Almalki. 2017. Protective effect of olive and juniper leaves extracts on nephrotoxicity induced by thioacetamide in male mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(1), 15-22.
- Al-Attar, A. M., M. H. Elnaggar, dan E. A. Almalki. 2017. Protective effect of some plant oils on diazinon induced hepatorenal toxicity in male rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 24(6): 1162-1171.
- Alegantina, S., M. Reini, P, dan Lastari. 2005. Penelitian kandungan organofosfat dalam tomat dan slada yang beredar di beberapa jenis pasar di DKI Jakarta. *Media Litbang Kesehatan*. 15(1): 44-49.
- Amanvermez, R., A. Baydin, T. Yardan, N. Basol, dan M. Gunay. 2010. Emergency laboratory abnormalities in suicidal patients with acute organophosphate poisoning. *Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem*. 34(1): 29-34.
- Aminah, S., dan W. Hersoelistyorini. 2012. Karakteristik Kimia Tepung Kecambah Serealia dan Kacang-kacangan dengan Variasi Blanching. In *Prosiding Seminar Nasional & Internasional*. 1(1): 209-217.
- Anshori, A., dan C. Prasetyono. 2016. Pestisida pada budidaya kedelai di Kabupaten Bantul DI Yogyakarta. Caraka Tani. *Journal of Sustainable Agriculture*. 31(1): 38-44.

- Aparicio, M., C. Redondo, S. Villanueva, dan R. Zapata. 2008. Soybean, a promising health source. *Nutr Hosp.* 23(4): 305-312.
- Aribowo, F. P., A. D. 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). Bagian Kesehatan Lingkungan dan Kesehatan Keselamatan Kerja Universitas Jember.
- Aronson, D., H. Hammerman, R. Beyar, S. Yalonetsky, M. Kapeliovich, W. Markiewicz, dan A. Goldberg. 2008. Serum blood urea nitrogen and long-term mortality in acute ST-elevation myocardial infarction. *International Journal of Cardiology.* 127(3): 380-385.
- Astawan, M., dan K. Hazmi. 2016. Karakteristik fisikokimia tepung kecambah kedelai. *Jurnal Pangan.* 25(2): 105-112.
- Atun, S. 2009. Potensi Senyawa Isoflavon dan Derivatnya Dari Kedelai (*Glycine max.* L) serta Manfaatnya untuk Kesehatan. *Prosiding Semiar Nasional Pendidikan dan Penerapan MIPA Universitas Negeri Yogyakarta.* 16(1): 33-41.
- Aukema, H. M., I. Housini, dan J. M. Rawling. 1999. Dietary soy protein effects on inherited polycystic kidney disease are influenced by gender and protein level. *Journal of the American Society of Nephrology.* 10(2): 300-308.
- Aziz, T. 2011. Analisis residu pestisida diazinon dalam tanaman kubis (*Brassica oleracea*) menggunakan biosensor elektrokimia secara voltametri siklik. *J. Prog. Kim. Si.* 1(1): 32-40.
- Barnett, S. D. dan I. L. O. Buxton. 2017. The role of S-nitrosoglutathione Reductase (GSNOR) in human disease and therapy. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology.* 52(3): 340-354.
- 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): 1-7.
- 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.*
- Bihun, C. dan L. Bauck. 2004. *Basic Anatomy, Physiology, Husbary, and Clinical Techniques.* Missouri: Saunders.

- Boroushaki, M. T., D. Arshadi, H. Jalili-Rasti, E. Asadpour, dan A. Hosseini. 2013. Protective effect of pomegranate seed oil against acute toxicity of diazinon in rat kidney. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 12(4): 821-827.
- Brookes, P. S., Y. Yoon, J. L. Robotham, M. W. Anders, dan S. S. Sheu. 2004. Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 287(4): 817-833.
- Buyang, Y., dan Y. Pasaribu. 2014. Analisis residu pestisida golongan piretroid pada beberapa sayuran di Kota Merauke. *Agricola*. 4(1): 41-48.
- Cahyani, R. D., L. K. Nuswantara, dan A. Subrata. 2012. Pengaruh proteksi protein tepung kedelai dengan tanin daun bakau terhadap konsentrasi amonia, undegraded protein dan protein total secara in vitro. *Animal Agriculture Journal*. 1(1): 159-166.
- Choi, C., H. Cho, J. Park, C. Cho, dan Y. Song. 2003. Suppressive effects of genistein on oxidative stress and NF- $\kappa$ B activation in RAW 264.7 macrophages. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 67(9): 1916-1922.
- Cook, T. J., dan S. S. Shenoy. 2003. Intestinal permeability of chlorpyrifos using the single-pass intestinal perfusion method in the rat. *Toxicology*. 184(3): 125-133.
- Durmaz, H., Y. Sevgiler, dan N. Üner. 2006. Tissue-specific antioxidative and neurotoxic responses to diazinon in *Oreochromis niloticus*. *Pesticide Biochemistry and physiology*. 84(3): 215-226.
- Ebuehi, O. A. dan H. K. Okafor. 2015. Defatted soy flour supplementation of wheat bread ameliorates blood stress in wistar rats. *Nig Q J Hosp Med*. 25(3): 156-163.
- Engoren, M., M. D. Maile, M. Heung, E. S. Jewell, C. Vahabzadeh, J.W. Haft, dan S. Kheterpal. 2017. The association between urine output, creatinine elevation, and death. *The Annals of Thoracic Surgery*. 103(4): 1229-1237.
- 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*. 68(1): 189-196.
- Federer, W. T. 1955. Experimental design. *Experimental Design*.
- Funaki, A., T. Waki, A. Noguchi, Y. Kawai, Yamashita, dan S. Takahashi. 2015. Identification of a highly specific isoflavone 7-O-Glucosyltransferase in the

- soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Plant Cell Physiol.* 56(8): 1512-1520.
- Galloway, T. dan R. Handy. 2003. Immunotoxicity of organophosphores pesticides. *Ecotoxicology.* 12(4): 345-363.
- Guyton, A.C. dan J.E. Hall. 2011. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.* Edisi 12. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Higgins, C. 2016. Urea and the Clinical Value of Measuring Blood Urea Concentration. <http://www.acutecaretesting.org>. [Diakses pada 9 Januari 2019].
- Hudayya, A. dan H. Jayanti. 2012. *Pengelompokan Pestisida Berdasarkan Cara Kerja (Mode of Action).* Bandung: Yayasan Bina Tani Sejahtera.
- Husain, A., L. 2010. Role of oxidative stress in organophosphate insecticide toxicity: short review. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 98(2): 145-150.
- Kamal E, A., dan L. A. Appelqvist. 1996. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids.* 31(7): 671-701.
- Kamanyire, R. dan L. Karalliedde. 2004. Organophosphate toxicity and occupational exposure. *Occupational Medicine.* 54(2): 69-75.
- Kementerian Pertanian. 2016. *Statistik Prasarana dan Sarana Pertanian 2011-2015.* Jakarta: Direktorat Jenderal Prasarana dan Sarana Pertanian.
- 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.
- Koprucu, S. S., K. Koprucu, M. Ural. U. Ispir. dan M. Pala. 2006. Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis* L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 86(2): 99-105.
- Koswara, S. 2009. *Teknologi Pengolahan Kedelai (Teori dan Praktek).* Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Kumar, S. dan A. K. Pandey. 2013. Review article chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientif World J.* 4(2): 32-48.
- Lari, P., K. Abnous, M. Imenshahidi, M. Rashedinia, M. Razavi, and H. Hosseinzadeh. 2013. Evaluation of Diazinon-induced Hepatotoxicity and

- Protective Effects of Crocin. *Toxicology and Industrial Health*. 31(4): 367-376.
- Levy, Y., dan T. J. Ellis. 2011. A guide for novice researchers on experimental and quasiexperimental studies in information systems research. *Interdisciplinary Journal of Information, Knowledge, and Management*. 6(1): 151-161.
- Linn T. J., F.G. Walter, D. Z. Hung, J. L. Tsai, S. C. Hu, J. S. Chang, J. Deng, P. B. Chase, K. Denninghoff, dan H. M. Chan. 2008. Epidemiology of organophosphate pesticide poisoning in Taiwan. *Clinical Toxicology*. 46(1): 794-801.
- Lorgue, G., J. Lechenet, dan A. Riviere. 1996. *Clinical Veterinary Toxicology*. Cambridge. Blackwell Science.
- Lopez-Giacoman, S. dan M. Madero 2015. Biomarkers in chronic kidney disease, from kidney function to kidney damage. *World Journal of Nephrology*. 4(1): 57-73.
- Ma, X., Z. Jiang, J. Zhang, dan Y. Hu. 2015. Isoflavone ameliorates H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced injury by activating the antioxidant system of sow mammary gland cell. *Natural Science*. 7(12): 571-580.
- Mardani, S., H. Nasri, S. Hajian, A. Ahmadi, R. Kazemi, dan M. Rafieian-Kopaei. 2014. Impact of *Momordica charantia* extract on kidney function and structure in mice. *Journal of Nephropathology*. 3(1): 35-40.
- Ma'rufi, I. 2012. Perilaku penggunaan pestisida dan kadar *acetil cholinesterase* dalam darah petani tembakau di Kecamatan Wuluhan Kabupaten Jember. *Jurnal Artocarpus Media Pharmaceutica Indonesia*. 9(2).
- Moshiri, M., M. Vahabzadeh, L. Etemad, dan H. Hosseinzadeh. 2013. Failure of intravenous lipid emulsion to reduce diazinon-induced acute toxicity: a pilot study in rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 12(4): 897-902.
- Muflihah, Y. M., A. Fithria, dan D. Indarti. 2015. Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri untuk Analisis Residu Pestisida Diazinon dalam Sawi Hijau (*Brassica juncea* L.). Prosiding Seminar Nasional Kimia.
- Munarso, S. J. 2009. Kontaminasi Residu Pestisida pada Cabai Merah, Selada, dan Bawang Merah (Studi Kasus di Bandungan dan Brebes Jawa Tengah serta Cianjur Jawa Barat). *Jurnal Hortikultura*. 19(1): 101-111.
- Murray, R. K., D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly, V. W. Rodwell, dan P. A. Weil. 2014. *Biokimia Harper*. Edisi 29. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

- National Institutes of Health US. 2016. *Vitamin E. Fact Sheet*. Washington: U.S. Department of Health & Human Services
- 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.
- Ozbek, E. 2012. Induction of oxidative stress in kidney. *Internatonal Journal of Nephrology*. 12(1): 1-9.
- Pagana, K.D., T. J. Pagana, dan T. N. Pagana. 1992. *Diagnostic & Laboratory Test Reference*. Missouri: Elsevier.
- Paulsen, F. dan J. Waschke. 2012. *Atlas Anatomi Manusia "Sobotta"*. Edisi 23 Jilid 1. Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Pearson, J. N., dan M. Patel. 2016. The role of oxidative stress in organophosphate and nerve agent toxicity. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1378(1): 17-24.
- Poet, T. S., A. A. Kousba, S. L. Dennison, dan C. Timchalk. 2004. Physiologically based pharmacokinetic/pharmacodynamic model for the organophosphorus pesticide diazinon. *Neurotoxicology*. 25(6): 1013-1030.
- Poovala, V. S., H. Huang, dan A. K. Salahudeen. 1999. Role of reactive oxygen metabolites in organophosphate-bidrin-induced renal tubular cytotoxicity. *Journal of the American Society of Nephrology*. 10(8): 1746-1752.
- Pratama, G. F. S. P. 2008. Paket Teknologi Untuk Memproduksi Mi Jagung Dengan Bahan Baku Tepung Jagung. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Purnomo, B. 2007. *Dasar-Dasar Urologi*. Jakarta: Sagung Seto.
- Raini, M. 2007. Toksikologi Pestisida dan Penanganan Akibat Keracunan Pestisida. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. 17(3): 10-18
- Rani, H., Z. Zulfahmi, dan Y. R. Widodo. 2017. Optimasi proses pembuatan bubuk (tepung) kedelai. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 13(3) 188-196.
- Resmisari, A. 2006. Tepung Jagung Komposit, Pembuatan dan Pengolahannya. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Inovatif Pascapanen Pengembangan Pertanian*.
- Ryan, A. 2010. Kajian Sifat Fisikokimia Tepung Jagung Ditinjau dari Beberapa Varietas. *Skripsi*. Purwokerto: Universitas Jenderal Sudirman.

- Samra, M., dan A. C. Abcar. 2012. False estimates of elevated creatinine. *The Permanente Journal*. 16(2): 51-2.
- Sandri, M. 2013. Protein breakdown in muscle wasting: role of autophagy-lysosome and ubiquitin-proteasome. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 45(10): 2121-2129.
- Sanz, A. B., B. Santamaría, M. R. Ortega, J. Egido, dan A. Ortiz. 2008. Mechanisms of renal apoptosis in health and disease. *Journal of the American Society of Nephrology*. 19(9): 1634-1642.
- Sargazi, Z., M. R. Nikravesh, M. Jalali, H. R. Sadeghnia, dan F. R. Anbarkeh. 2016. Apoptotic effect of organophosphorus insecticide diazinon on rat ovary and protective effect of vitamin E. *Iranian Journal of Toxicology*. 10(2): 37-44.
- Sarhan, O. M. M., dan Z. Y. Al-Sahhaf. 2011. Histological and biochemical effects of diazinon on liver and kidney of rabbits. *Life Sci. J.* 8(4): 1183-1189.
- Shah, M. D., dan M. Iqbal. 2010. Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 48(12): 3345-3353.
- Shiri, M., A. N. Nigjeh, M. Baeri, M. Rahimifard, H. Mahboudi, A. R. Shahverdi, A. Kebriaeezadeh, dan M. Abdollahi. 2016. Blockage of both the extrinsic and intrinsic pathways of diazinon-induced apoptosis in PaTu cells by magnesium oxide and selenium nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*. 11: 6239–6250.
- Sitasiwi, A. J. 2009. Efek paparan tepung kedelai dan tepung tempe sebagai sumber fitoestrogen terhadap jumlah kelenjar endometrium uterus mencit (*Mus musculus L.*). *Buletin Anatomi dan Fisiologi dh Sellula*. 17(1).
- Suardi, Suarni dan A. Prabowo. 2002. Teknologi Sederhana Prosesing Sorgum Sebagai Bahan Pangan. *Prosiding Seminar Nasional Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Selatan*.
- Suarni, M., Aqil, dan I. U. Firmansyah. 2008. Starch characterization of several maize varieties for industrial use in Indonesia. *Paper of the Asian Regional Maize Workshop (ARMW)*.
- Suhardjono D. 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Sumansyah, F. A., W. Husain, W. Dhana, I. Yekti, dan I. Eka. 2013. Intoksikasi Diazinon. *Referat*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.



- Suryana, A. 2014. Menuju ketahanan pangan Indonesia berkelanjutan 2025: tantangan dan penanganannya. *Forum Penelitian Agro Ekonomi*. 32(2): 123-135.
- Tuhumury, G. N. C., J. A. Leatemia, R. Y. Rumthe, J. V. Hasinu. 2012. Residu pestisida produk sayuran segar di kota ambon. *Agrologia*. 1(2): 99-105.
- Valenzuela, C. A., R. Zuloaga, L. Mercado, I. E. Einarsdottir, B. T. Björnsson, J. A. Valdés, dan A. Molina. 2017. Chronic stress inhibits growth and induces proteolytic mechanisms through two different nonoverlapping pathways in the skeletal muscle of a teleost fish. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 314(1): 102-113.
- Verdiansah. 2016. Pemeriksaan Fungsi Ginjal. *Cermin Dunia Kedokteran*. 32(2): 148-154.
- Waki, T., D. C. Yooa, N. Fujinoa, R. Mamedaa, K. Denessioukab, S. Yamashitaa, R. Motohashic, T. Akashid, T. Aokid S. Ayabed, S. Takahashia, dan T. Nakayamaa. 2016. Identification of protein–protein interactions of isoflavonoid biosynthetic enzymes with 2-hydroxyisoflavanone synthase in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 469(3): 546-551.
- Warisno dan K. Dahana. 2010. *Meraup Untung dari Olahan Kedelai*. Jakarta: PT Agro Media Pustaka.
- Weiner, I. D., W. E. Mitch, dan J. M. Sands. 2015. Urea and ammonia metabolism and the control of renal nitrogen excretion. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 10(8): 1444-1458.
- Wester, R. C., H. I. Maibach, D. A. Bucks, dan R. H. Guy. 1983. Malathion percutaneous absorption after repeated administration to man. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 68(1): 116-119.
- Widhyari, S. D., dan A. D. C. Esfandiari. 2015. Profil kreatinin dan nitrogen urea darah pada anak sapi *Friesian holstein* yang disuplementasi ZN. *Acta Veterinaria Indonesiana*. 3(2): 45–50.
- Widyanti, S. M., H. Ismono, dan S. Hidayati. 2012. Penentuan agroindustri berbasis jagung terpilih di Provinsi Lampung. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*. 16(1): 14-21.
- Winarsi, H. 2010. *Protein Kedelai dan Kecambah Manfaatnya bagi Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.

- Wresdiyati, T., M. Astawan, D. Fithriani, I. K. M. Adnyane, S. Novelina, dan S. Aryani. 2009. Pengaruh  $\alpha$ -tokoferol terhadap profil superoksida dismutase dan malondialdehida pada jaringan hati tikus di bawah kondisi stres. *Jurnal Veteriner*. 10(2): 202-209.
- Wu, H. X., C. Evreux-Gros, dan J. Descotes. 1996. Diazinon toxicokinetics, tissue distribution and anticholinesterase activity in the rat. *Biomedical and Environmental Sciences*. 9(4): 359-369.
- Wulandari, T. R. I., M. Harini, and S. Listyawati. 2007. Pengaruh pemberian ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap struktur mikroanatomi hepar dan kadar glutamat piruvat transaminase serum mencit (*Mus musculus*) yang terpapar diazinon. *Bioteknologi*. 4(2): 53–58.
- Yuantari, M. C. 2013. Dampak Pestisida Organoklorin Terhadap Kesehatan Manusia dan Lingkungan serta Penanggulangannya. *In Prosiding Seminar Nasional*: 187-199.
- Zhao, Y., P. M. Vanhoutte, dan S. W. S. Leung. 2015. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *Journal of Pharmacological Sciences*. 129(2): 83-94.

**Lampiran 3.1 Surat Keterangan Persetujuan Etik**

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
KOMISI ETIK PENELITIAN  
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember  
68121 – Email : [fk\\_unej@telkom.net](mailto:fk_unej@telkom.net)

---

**KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK**  
*ETHICAL APPROVA*  
Nomor : 1.268/H25.1.11/KE/2018

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.) Merr*) SEBAGAI NEFROPROTEKTOR TERHADAP KADAR BUN DAN KREATININ TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI DIAZINON**

Nama Peneliti Utama : Firman Herdiana.  
*Name of the principal investigator*

NIM : 152010101050

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
*Name of institution*

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

Jember, 14 Desember 2018  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
  
dr. Rini Riyanti, Sp.PK  


### Tanggapan Anggota Komisi Etik

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

*Review Proposal* :

1. Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan ( Penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R : *Reduced, Reused, Redefined*)
2. Mohon diperhatikan kontrol kualitas pembuatan tepung kedelai agar didapatkan kadar yang diinginkan.
3. Mohon diperhatikan oleh peneliti saat pengambilan sampel darah dan distribusi sampel darah agar meminimalisir bias penelitian.
4. Mohon diperhatikan metode pengukuran BUN dan Creatinin dan dikerjakan oleh orang yang kompeten.
5. Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Mengetahui  
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 10 Desember 2018

*Reviewer*

dr. Ayu Munawaroh Aziz, M.Biomed

**Lampiran 3.2 Surat Rekomendasi KOMBI**

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

**REKOMENDASI BEBAS PLAGIASI**

Nomor : 11 /H25.1.11/KBSI/2018

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

**POTENSI TEPUNG KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.) SEBAGAI NEFROPROTEKTOR TERHADAP KADAR BUN DAN KREATININ TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI DIAZINON**

Nama Penulis : Firman Herdiana  
NIM. : 152010101050  
Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Telah menyetujui dan dinyatakan "BEBAS PLAGIASI"

Surat Rekomendasi ini dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 26 Desember 2018  
Komisi Bimbingan Skripsi & Ilmiah  
Ketua,

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

**Lampiran 3.3 Determinasi Tanaman Kedelai**

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

<b>1.</b>	<b>MORFOLOGI DAUN</b>	
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> )
<b>2.</b>	<b>MORFOLOGI BATANG</b>	
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
<b>3.</b>	<b>MORFOLOGI AKAR</b>	
	Sistem perakaran	Tunggang dan bercabang
<b>4.</b>	<b>MORFOLOGI BUNGA</b>	Tanaman sudah berbuah (polong)
<b>5.</b>	<b>MORFOLOGI BUAH</b>	Berbentuk polong berwarna hijau dan berbulu
<b>6.</b>	<b>MORFOLOGI BIJI</b>	Berbentuk bulat telur berwarna hijau
<b>7.</b>	<b>MODIFIKASI ORGAN</b>	
a.	Jenis Modifikasi	Tidak ada
b.	Lain-Lain	Tidak ada

## Catatan:

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

Jember, 18 September 2017  
Pelaksana Identifikasi  
PLP Laboratorium Agronomi,



Muhammad Sugiono  
NIP. 196712182001121001

Tanaman yang di Identifikasi



Tanaman Lengkap



Daun Tanaman



Batang & Akar



Polong (buah) dan Biji

Jember, 18 September 2017  
Pelaksana Identifikasi  
PLP Laboratorium Agronomi,

Muhammad Sugiono  
NIP. 196712182001121001



### Lampiran 3.4 Pembuatan Tepung Kedelai

Pembuatan tepung kedelai dilakukan sebagai berikut.

1. Pemilihan dan penyortiran kedelai dengan membuang benda-benda asing.
2. Kedelai direndam dalam 3 L air bersih untuk 1 kg biji kedelai selama 3 jam.
3. Air rendaman kedelai diganti setiap 1 jam sekali.
4. Kedelai yang telah direndam ditiriskan.
5. Kedelai kemudian direbus selama 5 menit dan ditiriskan.
6. Setelah di rebus dilakukan pengeringan menggunakan panas matahari selama 4 jam dilanjutkan pengovenan pada suhu 50° C selama 24 jam.
7. Setelah diperoleh kedelai kering, dilakukan penggilingan menggunakan *disk mill*.
8. Mengayak tepung kedelai menggunakan ayakan 80 mesh
9. Pengayakan dilakukan dua kali pengulangan untuk memperoleh tepung kedelai yang lebih optimal.

**Lampiran 3.5 Daftar Volume Maksimal Larutan Uji Berdasarkan Jalur Pemberian 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	<b>5,0</b>
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 3.6 Tabel Dosis Diazinon**

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

### Lampiran 3.7 Terminasi Hewan Coba

Terminasi hewan coba dilakukan sebagai berikut.

1. Hewan coba dimasukkan ke dalam tempat transparan yang memiliki satu lubang. Pada penelitian ini peneliti menggunakan toples transparan.
2. Dietil eter dimasukkan ke dalam toples dengan bantuan kapas melalui lubang toples. Setelah dietil eter dalam kapas masuk lubang, kemudian segera lubang tersebut ditutup kembali.
3. Tikus dibiarkan beberapa waktu hingga menunjukkan tanda-tanda teranestesi.
4. Setelah dipastikan teranestesi, dilakukan fiksasi pada papan bedah menggunakan jarum pins.
5. Tubuh tikus dipastikan terfiksasi dengan baik untuk memudahkan pembedahan.
6. Pembedahan dimulai dari bagian perut menggunakan gunting jaringan.
7. Pengambilan darah menggunakan spuit pada jantung tikus bagian ventrikel sebanyak 5 mL, kemudian dilakukan sentriugasi untuk mendapatkan serum.
8. Darah dimasukkan ke tabung sentrifus dan dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit.
9. Supernatan dipindahkan ke *microtube* menggunakan micro pipet P 1000
10. Hewan coba yang telah mati dibakar dan dikubur menjadi satu pada kedalaman 50 cm.

### Lampiran 3.8 Pemeriksaan Kadar BUN

**Metode** : Urease-GLDH (*Glutamate dehydrogenase*) enzymatic UV test.

**Prinsip** :  $\text{Urea} + 2 \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{urease}} 2 \text{NH}_4^- + 2 \text{HCO}_3^-$

$2\text{-Oxoglutarate} + \text{NH}_4^- + \text{NADH} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L-Glutamate} + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$

#### Reagen

R1 : TRIS, 2-Oxoglutarate, ADP, urease, dan *glutamate dehydrogenase* (GLDH)

R2 : *Nicotinamide adenine dinucleotide* + *hydrogen* (NADH)

#### Pengaturan Biolyzer 100:

1. Pastikan alat sudah hidup, alat akan meminta pencucian.
2. Melakukan pencucian dengan extran 10 menit.
3. Melakukan pencucian dengan akuades 10 menit.
4. Memilih menu pengukuran kadar BUN.
5. Melakukan pencucian ulang menggunakan akuades melalui *sippe tube*.
6. Melakukan pengaturan waktu inkubasi selama 2 menit.
7. Melakukan pengaturan panjang gelombang 340 nm.
8. Alat akan meminta reagen blanko, blanko dialirkan pada *sipper tube*.
9. Melakukan pengukuran standar pemeriksaan BUN.
10. Melakukan pemeriksaan BUN sesuai prosedur dibawah

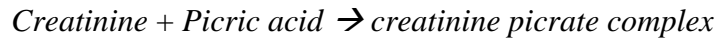
#### Prosedur Pemeriksaan:

1. Campur reagen 1 dan reagen 2 dengan perbandingan 4 : 1 sehingga didapat reagen mono.
2. Reagen mono diinkubasi pada suhu 15-25°C selama 30 menit, dihindarkan dari sinar matahari.
3. 10 µL serum dimasukan ke dalam tabung reaksi 3 cc.
4. 1000 µL reagen mono ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi serum.
5. Larutan dalam tabung reaksi dicampurkan.
6. Larutan dibaca dengan dialirkan pada *sipper tube*.
7. Secara otomatis didapatkan nilai BUN dalam satuan mg/dL.

### Lampiran 3.9 Pemeriksaan Kadar Kreatinin

**Metode** : Tes kinetik tanpa deproteinasi berdasarkan metode Jaffe.

**Prinsip** : Kreatinin membentuk kompleks warna jingga-merah dalam larutan pikrat alkali.



#### Reagen

R1 : *Sodium Hydroxide*

R2 : *Picric Acid*

#### Pengaturan Biolyzer 100:

1. Pastikan alat sudah hidup, alat akan meminta pencucian.
2. Melakukan pencucian dengan extran 10 menit.
3. Melakukan pencucian dengan akuades 10 menit.
4. Memilih menu pengukuran kadar kreatinin.
5. Melakukan pencucian ulang menggunakan akuades melalui *sippe tube*.
6. Melakukan pengaturan waktu inkubasi selama 2 menit.
7. Melakukan pengaturan panjang gelombang 492 nm.
8. Alat akan meminta reagen blanko, blanko dialirkan pada *sipper tube*.
9. Melakukan pengukuran standar pemeriksaan kreatinin.
10. Melakukan pemeriksaan kreatinin sesuai prosedur dibawah

#### Prosedur Pemeriksaan:

1. Campur reagen 1 dan reagen 2 dengan perbandingan 4 : 1 sehingga didapat reagen kerja.
2. 50  $\mu\text{L}$  serum dimasukan ke dalam tabung reaksi 3 cc.
3. 1000  $\mu\text{L}$  reagen kerja ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi serum.
4. Larutan dalam tabung reaksi dicampurkan.
5. Larutan dibaca dengan dialirkan pada *sipper tube*.
6. Secara otomatis didapatkan nilai kreatinin dalam satuan mg/dL.

**Lampiran 4.1 Data Kadar BUN**

Kelompok	Nomor perlakuan	Kadar BUN (mg/dL)	Rata-rata (mg/dL)
Kn	1	22,52	24,076
	2	23,44	
	3	23,44	
	4	25,46	
	5	25,52	
K(-)	1	26,37	28,768
	2	26,38	
	3	26,39	
	4	32,24	
	5	32,46	
K1	1	24,48	26,446
	2	25,46	
	3	25,57	
	4	27,35	
	5	29,37	
K2	1	21,54	24,880
	2	25,40	
	3	25,46	
	4	25,63	
	5	26,37	
K3	1	22,58	24,278
	2	23,44	
	3	23,60	
	4	25,40	
	5	26,37	

**Lampiran 4.2 Data Kadar Kreatinin**

Kelompok	Nomor perlakuan	Kadar BUN (mg/dL)	Rata-rata (mg/dL)
Kn	1	0,33	0,866
	2	0,67	
	3	1,17	
	4	0,83	
	5	1,33	
K(-)	1	1,18	1,306
	2	1,33	
	3	1,50	
	4	1,18	
	5	1,34	
K1	1	1,33	1,266
	2	1,17	
	3	1,50	
	4	1,00	
	5	1,33	
K2	1	1,17	1,104
	2	1,17	
	3	1,01	
	4	1,00	
	5	1,17	
K3	1	0,83	0,934
	2	0,84	
	3	0,84	
	4	1,16	
	5	1,00	



### Lampiran 4.3 Hasil Analisis Statistik Kadar BUN dengan SPSS

#### A. Uji Normalitas

##### Tests of Normality

Kadar_BUN		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	Kn	.282	5	.200*	.852	5	.200
	K(-)	.366	5	.027	.697	5	.009
	K1	.275	5	.200*	.917	5	.514
	K2	.407	5	.007	.733	5	.021
	K3	.269	5	.200*	.925	5	.561

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

a. Lilliefors Significance Correction

#### B. Uji Normalitas Hasil Transformasi Data Menggunakan Transformasi lg10

##### Tests of Normality

Log_Kadar_BUN		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	Kn	.277	5	.200*	.856	5	.215
	K-	.366	5	.027	.696	5	.009
	K1	.270	5	.200*	.927	5	.573
	K2	.413	5	.005	.719	5	.015
	K3	.263	5	.200*	.929	5	.591

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

a. Lilliefors Significance Correction

#### C. Uji Kruskal Wallis

##### Test Statistics<sup>a,b</sup>

	Kadar_BUN
Chi-Square	12.548
df	4
Asymp. Sig.	.014

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

#### D. Uji Post Hoc Mann Whitney U

##### Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Kn	5	3.00	15.00
	K-	5	8.00	40.00
	Total	10		

##### Test Statistics<sup>a</sup>

	Kadar_BUN
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Kn	5	3.70	18.50
	K1	5	7.30	36.50
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_BUN	
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	18.500
Z	-1.892
Asymp. Sig. (2-tailed)	.059
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.056 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Kn	5	4.70	23.50
	K2	5	6.30	31.50
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_BUN	
Mann-Whitney U	8.500
Wilcoxon W	23.500
Z	-.841
Asymp. Sig. (2-tailed)	.401
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.421 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Kn	5	5.20	26.00
	K3	5	5.80	29.00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_BUN	
Mann-Whitney U	11.000
Wilcoxon W	26.000
Z	-.317
Asymp. Sig. (2-tailed)	.751
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K-	5	6.80	34.00
K1	5	4.20	21.00
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_BUN	
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-1.358
Asymp. Sig. (2-tailed)	.175
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K-	5	7.90	39.50
K2	5	3.10	15.50
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_BUN	
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	15.500
Z	-2.514
Asymp. Sig. (2-tailed)	.012
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K-	5	7.90	39.50
K3	5	3.10	15.50
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_BUN	
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	15.500
Z	-2.514
Asymp. Sig. (2-tailed)	.012
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K1	5	6.30	31.50
K2	5	4.70	23.50
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_BUN	
Mann-Whitney U	8.500
Wilcoxon W	23.500
Z	-.838
Asymp. Sig. (2-tailed)	.402
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.421 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: Kelompok  
 b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K1	5	7.20	36.00
K3	5	3.80	19.00
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_BUN	
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	19.000
Z	-1.776
Asymp. Sig. (2-tailed)	.076
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: Kelompok  
 b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K2	5	6.20	31.00
K3	5	4.80	24.00
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_BUN	
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	24.000
Z	-.736
Asymp. Sig. (2-tailed)	.462
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: Kelompok  
 b. Not corrected for ties.

**Lampiran 4.4 Hasil Analisis Statistik Kadar Kreatinin dengan SPSS**

**A. Uji Normalitas**

**Tests of Normality**

Kadar_Kreatinin		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	Kn	.177	5	.200*	.972	5	.886
	K(-)	.228	5	.200*	.888	5	.347
	K1	.233	5	.200*	.963	5	.827
	K2	.367	5	.026	.702	5	.010
	K3	.342	5	.057	.793	5	.071

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

a. Lilliefors Significance Correction

**B. Uji Normalitas Hasil Transformasi Data Menggunakan Transformasi lg10**

**Tests of Normality**

Log_Kadar_Kreatinin		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	Kn	.193	5	.200*	.926	5	.567
	K(-)	.233	5	.200*	.889	5	.353
	K1	.248	5	.200*	.950	5	.734
	K2	.367	5	.026	.704	5	.011
	K3	.344	5	.053	.799	5	.079

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

a. Lilliefors Significance Correction

**C. Uji Kruskal Wallis**

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

Kadar_Kreatinin	
Chi-Square	13.278
df	4
Asymp. Sig.	.010

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

**D. Uji Post Hoc Mann-Whitney U**

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kn	5	3.50	17.50
K(-)	5	7.50	37.50
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_Kreatinin	
Mann-Whitney U	2.500
Wilcoxon W	17.500
Z	-2.102
Asymp. Sig. (2-tailed)	.036
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kn	5	3.90	19.50
K1	5	7.10	35.50
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_Kreatinin	
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	19.500
Z	-1.697
Asymp. Sig. (2-tailed)	.090
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kn	5	4.70	23.50
K2	5	6.30	31.50
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_Kreatinin	
Mann-Whitney U	8.500
Wilcoxon W	23.500
Z	-.862
Asymp. Sig. (2-tailed)	.389
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.421 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kn	5	5.10	25.50
K3	5	5.90	29.50
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_Kreatinin	
Mann-Whitney U	10.500
Wilcoxon W	25.500
Z	-.420
Asymp. Sig. (2-tailed)	.674
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.690 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K(-)	5	6.10	30.50
K1	5	4.90	24.50
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_Kreatinin	
Mann-Whitney U	9.500
Wilcoxon W	24.500
Z	-.638
Asymp. Sig. (2-tailed)	.523
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K(-)	5	8.00	40.00
K2	5	3.00	15.00
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_Kreatinin	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.652
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K(-)	5	8.00	40.00
K3	5	3.00	15.00
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_Kreatinin	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.627
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K1	5	6.80	34.00
K2	5	4.20	21.00
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_Kreatinin	
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-1.410
Asymp. Sig. (2-tailed)	.159
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K1	5	7.70	38.50
K3	5	3.30	16.50
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_Kreatinin	
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	16.500
Z	-2.319
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
K2	5	7.50	37.50
K3	5	3.50	17.50
Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Kadar_Kreatinin	
Mann-Whitney U	2.500
Wilcoxon W	17.500
Z	-2.128
Asymp. Sig. (2-tailed)	.033
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.



**Lampiran 4.5 Tabel Perhitungan Konversi Dosis 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 4.6 Dekumentasi Penelitian



Pengeringan kedelai



Pengayakan dengan ukuran 80 mesh



Tepung kedelai



Larutan tepung kedelai dalam aquades



Proses penyondean hewan coba



Kandang hewan coba



Diazinon yang digunakan dalam penelitian



Corn oil yang digunakan dalam penelitian



Pengambilan sampel darah dari jantung



Proses sentrifugasi



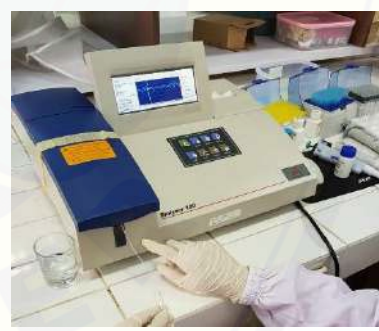
Serum disimpan pada mikrotube



Reagen pemeriksaan BUN



Reagen pemeriksaan kreatinin



Pemeriksaan BUN dan kreatinin Menggunakan Biolyzer 100