

Efek *Glycine Max* Varietas Anjasmoro terhadap Kadar Timbal dan Malondialdehid pada Mencit Terintoksikasi Timbal

Rika Yulia¹, Lidya Karina¹, Veronica¹, dan Juliana Christyaningsih²

ABSTRACT: The objective of this research is investigating the effect of *Glycine max* Anjasmoro variety to mice with lead intoxication by measuring the levels of Pb in mice's (*Mus musculus*) blood and MDA in mice's liver and kidney strain BALB/C by using the thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) assay. Research carried out by using 20 mice strain BALB/C that were randomly divided into four groups of five mice including negative control, positive control, treatment, and reference. All groups except positive control were intoxicated with lead in a dose of 25 mg/kg body weight for the duration of seven days. One gram of *Glycine max* has been given to the treatment group and positive control. Thereafter 64 mg/kg body weight of vitamin has been given to the reference group. The results showed that *Glycine max* Anjasmoro varieties was significantly decrease the levels of lead in mice's blood and also reduce the levels of MDA in the liver and kidney although the results were not significant.

Keywords : *Glycine max* Anjasmoro variety, lead, malondialdehyde, vitamin C, *Mus musculus*

ABSTRAK: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *Glycine max* varietas Anjasmoro pada mencit yang terintoksikasi timbal (Pb) dengan mengukur kadar Pb darah dan kadar Malondialdehid (MDA) pada hepar dan ginjal mencit (*Mus musculus*) strain BALB/C dengan menggunakan metode *Thiobarbituric Acid Reactive Substance* (TBARS) assay. Penelitian dilakukan dengan menggunakan 20 ekor mencit strain BALB/C yang dibagi secara acak kedalam empat kelompok masing-masing lima ekor yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, uji, dan pembandingan. Semua kelompok diintoksikasi dengan Pb 25 mg/kg BB kecuali kontrol positif selama tujuh hari. Kemudian dilanjutkan selama tujuh hari dengan pemberian ekstrak kedelai 1 gram pada kontrol positif dan uji serta vitamin C 64 mg/kg BB pada kelompok pembandingan. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh hasil bahwa ekstrak *Glycine max* varietas Anjasmoro yang diberikan dapat menurunkan kadar Pb dalam darah secara signifikan dan juga dapat menurunkan kadar MDA dalam hepar dan ginjal walaupun hasilnya tidak signifikan.

Kata kunci: *Glycine max* varietas Anjasmoro, timbal, malondialdehid, vitamin C, *Mus musculus*

¹ Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya (UBAYA)

² Analis Kesehatan Politeknik Kemenkes Surabaya

Korespondensi :

Rika Yulia

Email : rika.y73@gmail.com

PENDAHULUAN

Pencemaran logam berat merupakan masalah kesehatan lingkungan yang sedang hangat dibicarakan diseluruh dunia. Logam berat menimbulkan krisis ekologi dan bila terakumulasi dalam jumlah tertentu dalam tubuh menimbulkan efek biologis yang tidak diinginkan. Timbal (Pb) merupakan salah satu logam berat toksik, kontaminan lingkungan yang umum digunakan dalam pembuatan baterai, cat, pernis dan campuran bahan bakar (1).

Masuknya senyawa Pb ke dalam tubuh dapat mengakibatkan terbentuknya suatu senyawa yang disebut radikal bebas. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan sehingga menjadi radikal bebas reaktif (2). Radikal bebas reaktif ini menginduksi terjadinya stress oksidatif baik pada darah maupun jaringan lunak lainnya. Dilaporkan pula bahwa keberadaan Pb dalam tubuh menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid, peningkatan jumlah senyawa reaktif asam thiobarbiturat pada otak, penurunan berat badan, anemia, nefropati, infertilitas, kerusakan pada testis, jantung, ginjal dan hepar (3).

Meskipun reaktivitas radikal bebas sangat berbahaya, proses oksidasi itu dapat dihambat oleh mekanisme peredaman radikal bebas secara fisiologis yang dapat diperoleh dari *glutation* (GSH), *glutation disulfide* (GSSG), enzim superoksida dismutase (SOD), enzim katalase (CAT), enzim *nitric oxyde syntase*. Aktivitas Enzim-enzim ini menurut hasil penelitian dapat digunakan sebagai marker terjadinya intoksikasi Pb (4).

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menangkal efek negatif radikal bebas karena kemampuannya menghentikan atau memutus reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat dalam tubuh (5). Mekanisme kerja dari antioksidan itu ialah memberikan elektronnya dengan cuma-cuma kepada molekul radikal bebas sehingga elektron yang tidak berpasangan pada radikal bebas tidak mengambil elektron dari sel-sel tubuh (6). Sebagian besar sampel suplemen-

tasi antioksidan yang berasal dari luar tubuh juga dapat digunakan sebagai metode alternatif dalam mengatasi terbentuknya radikal bebas secara berlebih didalam tubuh (4).

Sebenarnya bumi nusantara kaya akan bahan pangan yang mengandung senyawa antioksidan. Senyawa tersebut banyak terkandung dalam sayuran dan buah-buahan, terutama kacang-kacangan maupun biji-bijian (3), yang mengandung vitamin C, vitamin E, betakaroten, senyawa fenolik dan flavonoid (6). Salah satu tanaman yang mengandung senyawa fenolik dan flavonoid adalah kedelai (*Glycine max*). Di dalam kedelai terkandung turunan flavonoid kelompok fitosterogen yang disebut isoflavon. Akhir-akhir ini senyawa tersebut banyak menarik perhatian masyarakat, khususnya dalam dunia medis. Survei epidemiologis dan penelitian dengan menggunakan hewan coba menunjukkan bahwa kandungan isoflavon dalam kedelai memiliki efek proteksi terhadap sindrom menopause dan berbagai gangguan penyakit, termasuk kardiovaskular, kanker, hiperlipidemia, osteoporosis, berbagai penyakit kronis lain, dan juga diduga memiliki potensi sebagai antioksidan (7).

Salah satu masalah utama dalam upaya eksplorasi aktivitas biologis dari suatu tanaman adalah perbedaan kadar kandungan kimianya, sehingga efek terapi yang dihasilkan juga berbeda karena sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti tempat tumbuh, waktu panen, varietas, daerah asal dan lain sebagainya. Oleh karena itu pada penelitian ini digunakan salah satu varietas kedelai (*Glycine max*) yang tersedia, dengan tujuan menganalisis efek *Glycine max* varietas Anjasmoro terhadap kadar Pb darah dan malondialdehid (produk peroksidasi lipid) pada hepar dan ginjal mencit yang terintoksikasi Pb dibandingkan dengan vitamin C.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Biji kedelai (*Glycine max*) varietas Anjasmoro, etanol 96,5% (teknis), vitamin C (kadar 99,6 %

dari Nacalai p.a), asam thiobarbiturat (TBA), Pb Asetat (p.a), eter, etil asetat, kloroform, lempeng silica gel GF 254, dan aquadem.

Alat Penelitian

Maserasi kinetik (*Stirring Motor* IKA Rw 20 N) dengan kecepatan pengadukan 10 rpm, *rotary evaporator* (BUCHI Rotavapor R-114), *water bath electric* (BUCHI Waterbath B-480), pengayak Mesh 20, timbangan kilogram, spektrofotometer Ultra Violet-Visible (UV-Vis), *Atomic Absorbption Spectrophotometry* (AAS), *chamber* eluasi, kandang tikus beserta botol minum, mortir, stamper, timbangan hewan coba, sonde oral, *sprit* injeksi 1 dan 3 ml, satu set alat bedah minor (untuk mengambil organ hewan coba mencit), dan alat-alat gelas laboratorium.

Hewan Percobaan

Mencit (*Mus musculus*) strain BALB/C, jantan, dewasa, umur 10 minggu, berat badan 25-30 gram, sehat fisik dengan ciri-ciri bermata jernih, bulu mengkilap, gerak aktif.

Pembuatan Ekstrak Kedelai (*Glycine max*)

Biji kedelai varietas anjasmoro digiling dengan blender dan diayak dengan Mesh 20 sampai terbentuk serbuk. Serbuk biji kedelai varietas Anjasmoro ditimbang 0,3 kg kemudian dimaserasi dengan etanol 96,5% sebanyak ± 2 Liter (sampai terendam) dengan menggunakan alat maserasi kinetik selama 1 jam kemudian didiamkan selama 24 jam. Setelah itu disaring ke erlenmeyer. Ampas diekstraksi kembali dengan cara yang sama menggunakan 2 Liter etanol 96,5% sebanyak 2 kali replikasi. Hasil ekstraksi kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan *water bath electric* hingga didapatkan ekstrak kental.

Identifikasi Kandungan Flavonoid pada Ekstrak Etanol Kedelai (*Glycine max*) varietas Anjasmoro

Ekstrak etanol kedelai (*Glycine max*) varietas anjasmoro yang sudah kental diidentifikasi kan-

dungan flavonoidnya secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan fase diam silica gel GF 254 (yang telah diaktifkan 105°C selama 30 menit) dan fase gerak kloroform-etil asetat (60:40). Diamati hasil eluasi pada penampakan noda:UV 365 yang akan memberikan fluoresensi kuning, biru atau hijau dan dengan pereaksi uap ammonia yang akan memberikan warna kuning (cepat memudar).

Pengkondisian dan Adaptasi Hewan Coba Mencit (*Glycine max*)

Hewan coba dikondisikan selama kurang lebih tujuh hari sebelum perlakuan. Seluruh mencit diberi pakan *pellet* starter dan minum *ad libitum* selama masa adaptasi. Ruang pemeliharaan memiliki suhu optimal $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ dan kelembaban relatif 30-70% dengan siklus penerangan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Selama masa ini hewan coba yang digunakan harus sehat dengan mengamati kondisi fisik hewan coba meliputi bobot badan, ada/tidaknya kerontokan rambut, kejernihan mata, ada/tidaknya lendir pada hidung, ada/tidaknya diare dan aktivitas motorik. Setelah dipastikan normal, tikus dipuasakan semalaman (18 jam) sebelum diberikan perlakuan

Perlakuan terhadap Hewan Coba

Hewan coba mencit yang digunakan sebanyak 20 ekor yang dikelompokkan secara acak ke dalam empat kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok uji, kelompok kontrol positif, dan kelompok pembanding yang masing-masing terdiri atas lima ekor mencit. Mencit diberi plumbum asetat netral dengan dosis 25 mg/kg BB/oral/ hari diberikan pada pagi hari dengan sonde selama tujuh hari kecuali kelompok kontrol positif. Suspensi kedelai 0,05 mg/ml diberikan satu ml kepada mencit kelompok uji dan kontrol positif setiap pagi hari selama tujuh hari setelah periode intoksikasi dengan larutan Pb asetat, menggunakan sonde oral. Sedangkan kelompok pembanding setelah periode intoksikasi diberi vitamin C dosis 64 mg/kg BB/oral/hari/mencit, dan kelompok kontrol negative diberi aquadem.

Setelah perlakuan selesai, mencit di euthanasia secara inhalasi menggunakan bahan kimia eter. Pada eutanasia inhalasi, mencit ditempatkan di dalam *chamber* yang telah dijenuhkan dengan eter.

Isolasi Organ

Sampel organ hepar dan ginjal yang telah dipisahkan dari tubuh mencit digerus dan dipindahkan dalam larutan PBS untuk memisahkan sel darah merah dan bekuan darah. Campuran tersebut dihomogenisasi dalam buffer dan disentrifugasi selama 15 menit pada 4°C. Supernatan dipisahkan dan dilakukan analisis kadar MDA hepar dan ginjal mencit.

Pemeriksaan Kadar Pb

Kadar Pb diperiksa menggunakan sampel darah yang diambil melalui rute *intracardiac* menggunakan spuit injeksi 1,0 ml. Penentuan kadar Pb dilakukan pada akhir treatment (*end phase*) dengan menggunakan *Atomic Absorbtion Spectrophotscopy* (AAS). Kadar Pb dinyatakan dalam satuan ppm (*part per million*).

Penentuan Kadar Malondialdehid (MDA)

Senyawa MDA dapat diukur dengan kuantitatif menggunakan metode *Thiobarbituric Acid*

Reactive Substance (TBARS) assay yaitu dengan mereaksikan asam thiobarbiturat (TBA) dengan MDA membentuk kromogen berwarna merah muda yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 532 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

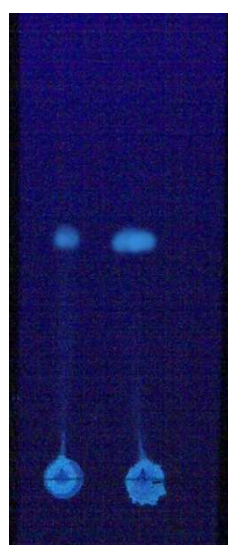
Identifikasi Bahan

Hasil identifikasi bahan adalah kedelai (*Glycine max*) varietas Anjasmoro yang disertifikasi oleh UPT. Pengawasan dan Sertifikasi Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura, Jawa Timur

Hasil identifikasi flavonoid secara kromatografi lapis tipis

Hasil Identifikasi Flavonoid (Tabel 1) setelah dieluasi lalu diamati dengan penampak noda UV 365 menghasilkan fluorescensi warna biru tua (Gambar 1a) dan pereaksi uap ammonia menghasilkan warna kuning yang cepat memudar (Gambar 1b).

Noda kuning dan fluorosensi biru pada panjang gelombang 365 nm menandakan ekstrak *Glycine max* varietas Anjasmoro benar mengandung flavonoid secara kualitatif dengan metode kromatografi lapis tipis.



(a)



(b)

Gambar 1. Hasil Identifikasi Flavonoid Ekstrak Biji Kedelai Varietas Anjasmoro dengan (a) Penampak noda UV 365 menghasilkan fluorescensi warna biru tua dan (b) Pereaksi uap ammonia.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Flavonoid Ekstrak Biji Kedelai Varietas Anjasmoro

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

Tabel 2. Hasil Pengujian Organoleptis Ekstrak Etanol Biji *Glycine max* Varietas Anjasmoro

No	Karakteristik	Pengujian
1	Bentuk	Gumpalan keras (sangat kental)
2	Warna	Coklat tua
3	Bau	Agak merangsang

Tabel 3. Hasil Pengujian Organoleptis Ekstrak Etanol Biji *Glycine max* Varietas Anjasmoro

No	Nama Bahan	Kadar Pb	Satuan
1	Biji Kedelai Varietas Anjasmoro	0,259	ppm
2	Ekstrak Kedelai Varietas Anjasmoro	0,204	ppm

Tabel 4. Kadar Pb Darah Mencit (ppm) yang Diberi Ekstrak Kedelai Varietas Anjasmoro

No Mencit	Kelompok Kontrol (-)	Kelompok Kontrol (+)	Kelompok Uji	Kelompok Pembanding
1.	0.404	0.224	0,275	0.324
2.	0.380	0.192	0,255	0.382
3.	0.393	0.248	0,262	0.188
4.	0.294	0.227	0,310	0.278
5.	0.288	0.148	0,312	0.182
Rata-rata	0.352 ^a	0.208 ^b	0,283 ^c	0.271 ^c
SD	0.056	0.039	0,027	0.087

Hasil Pemeriksaan Organoleptis

Hasil pengujian organoleptis ekstrak etanol Biji *Glycine max* varietas Anjasmoro, yang meliputi warna, bentuk dan bau dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil Pemeriksaan Kadar Timbal Simplisia dan Ekstrak Kedelai

Kadar Pb biji kedelai (*Glycine max*) varietas Anjasmoro baik dalam bentuk simplisia maupun

ekstrak kental dianalisis dengan menggunakan *atomic absorption spectrophotometry* (AAS). Hasil analisis kadar Pb dalam biji kedelai dan ekstrak kedelai varietas anjasmoro dapat dilihat pada Tabel 3.

Adanya kandungan Pb ini dapat disebabkan karena terakumulasinya logam-logam berat seperti Pb pada jaringan tanaman selama tanaman tumbuh pada tanah yang telah terkontaminasi logam berat akibat proses peleburan logam, irigasi

yang menggunakan air limbah, pembuangan limbah padat termasuk limbah lumpur, knalpot kendaraan, dan berdekatan dengan kegiatan industri.

Pemeriksaan Kadar Pb Darah Mencit

Hasil analisis kadar Pb dalam darah mencit-mencit tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.

Analisis statistik diperoleh hasil signifikansi antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, kelompok uji dan pembandingan. sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan kadar Pb yang signifikan antara kelompok tersebut. Hasil perbedaan signifikan juga ditun-

jukkan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok uji dan pembandingan, sedangkan antara kelompok uji dan pembandingan tidak menunjukkan perbedaan signifikan. Hal ini menggambarkan efektivitas vitamin C dan ekstrak biji kedelai varietas anjasmoro dalam menurunkan kadar Pb.

Hasil Pemeriksaan Kadar MDA Hepar Mencit

Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri. Data yang diperoleh dari pengukuran tersebut dapat dilihat pada tabel 5 dan 6.

Analisis statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok.

Tabel 5. Kadar MDA (ppm) Hepar Hewan Mencit yang diberi Ekstrak Kedelai Varietas Anjasmoro

Mencit	Kelompok Kontrol negatif	Kelompok Kontrol positif	Kelompok Uji	Kelompok Pembandingan
1.	58.305	28.418	23.699	18.980
2.	52.013	29.991	55.159	36.283
3.	28.418	27.632	23.699	33.137
4.	41.002	56.732	45.575	29.991
5.	33.924	18.980	15.834	25.272
Rata-rata	42.732	26.959	32.793	28.733
SD	12.39	14.29	16.70	6.80

Tabel 6. Kadar MDA (ppm) Ginjal Mencit yang diberi Ekstrak Kedelai Varietas Anjasmoro

Mencit	Kontrol negatif	Kontrol positif	Kelompok Uji	Kelompok Pembandingan
1.	25,272	17,407	9,452	45,721
2.	20,553	26,845	29,991	47,291
3.	28,418	11,115	61,451	17,407
4.	52,013	18,980	29,205	7,183
5.	61,451	22,126	28,418	14,261
Rata-rata	37,54	19,29	31,70	26,37
SD	18,05	5,82	18,71	18,76

KESIMPULAN DAN SARAN

Ekstrak kedelai (*Glycine max*) varietas Anjas-moro efektif dalam menurunkan kadar Pb dalam darah mencit yang telah terintoksikasi, efeknya

setara dengan suplementasi vitamin C.

Baik ekstrak kedelai (*Glycine max*) varietas An-jasmoro maupun vitamin C sama-sama tidak efektif dalam mempengaruhi kadar MDA dalam hepar dan ginjal mencit yang telah terintoksikasi Pb.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jayakumar K., Vijayarengan P., Changxing Z., Gomathinayagam M., Jaleel CA. Soil applied cobalt alters the nodulation, leg-haemoglobin content and antioxidant status of *Glycine max* (L.) Merr. *Biointerfaces* 2008; 67 : 272-275
2. Winarsi, Hery, *Isoflavon Berbagai Sumber, Sifat, dan Manfaatnya Pada Penyakit Degeneratif*, Yogyakarta, Gadjah Mada University Press, 2005.
3. Ardyanto, Denny, Deteksi Pencemaran Timah Hitam (Pb) Dalam Darah Masyarakat yang Terpapar Timbal (Plumbum), *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 2005; 2(1), hal. 67-76.
4. Khaki, A. A., & Khaki, A, Antioxidant Effect of Ginger to Prevents Lead-induced Liver Tissue Apoptosis in Rat. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2010; 4 (14), 1492-1495.
5. Hernani, R. M., *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*, Jakarta, Penebar Swadaya. 2006.
6. Kumalaningsih, *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas. Sumber, manfaat, cara penyediaan, dan pengolahan*, Surabaya, Trubus Agrisarana, 2006.
7. Aykin-Burns, N., Laegeler, A., Kellogg, G., Ercal, N, Oxidative effects of lead in young and adult fisher 344 rats, *Arch. Environ. Contam. Toxicol*, 2003; 44: 417-420.