

AKTIVITAS EKSTRAK GLYCINE MAX (L.) MERR. VARIETAS ARGOMULYO TERHADAP KADAR TIMBAL DALAM DARAH DAN GAMBARAN HISTOLOGI HEPAR MENCIT YANG TERINTOKSIKASI TIMBAL

¹Rika Yulia, ²Try Novia Jaya Ningsih

^{1,2}Fakultas Farmasi Universitas Surabaya, Jalan Raya Kalirungkut Surabaya, 60293
e-mail: ¹rika_y@staff.ubaya.ac.id, ²trynovia@gmail.com

Abstrak. Penelitian ini bertujuan melihat pengaruh ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas *Argomulyo* yang dibuat secara maserasi kinetik menggunakan pelarut metanol 90% terhadap kadar Pb dalam darah dan gambaran histologi hepar mencit yang terintoksikasi timbal dengan pembandingan vitamin C. Pengujian dilakukan pada 25 ekor mencit jantan, yang dibagi kedalam lima kelompok yaitu plasebo, kontrol negatif, kontrol positif, uji dan pembandingan. Semua kelompok diadaptasikan selama tujuh hari. Setelah itu diintoksikasi Pb dosis 25 mg/kg BB kecuali kelompok plasebo dan kontrol positif yang hanya diberi akuadem selama tujuh hari. Setelah proses intoksikasi dilanjutkan pemberian ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas *Argomulyo* dosis 6,45 mg ekstrak/mL pada kelompok kontrol positif dan 7,17 mg ekstrak/mL pada kelompok uji, vitamin C dosis 64 mg/kg BB pada kelompok pembandingan, akuadem pada kelompok plasebo dan mucilago CMC Na 0,5% pada kelompok kontrol negatif selama tujuh hari. Dari hasil penelitian diperoleh ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas *Argomulyo* tidak efektif dalam menurunkan kadar Pb darah mencit yang telah terintoksikasi Pb namun ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas *Argomulyo* efektif dalam mengurangi kerusakan sel hepar mencit yang telah terintoksikasi Pb dibandingkan dengan vitamin C.

Kata kunci: *Glycine max* (L.) Merr. varietas *Argomulyo*, Pb, gambaran histologi hepar, radikal bebas, vitamin C.

1. Pendahuluan

Pb di dalam darah dapat menyebabkan kerusakan berbagai organ termasuk organ hepar. Hal ini diakibatkan oleh kemampuan Pb untuk membentuk radikal bebas dalam tubuh serta menurunkan kemampuan antioksidan sehingga dengan sendirinya akan terjadi stres oksidatif. Berbagai penelitian membuktikan bahwa Pb secara langsung dapat menimbulkan terjadinya gangguan dalam proses biokimia normal sistem hepatobilier dan dapat menyebabkan nekrosis sel hepar (Santosa, 2005).

Secara tidak langsung senyawa radikal bebas akan merusak sel sehingga menyebabkan suatu penyakit. Penyakit yang timbul karena pengaruh radikal bebas tersebut dapat dicegah bila tubuh memiliki penangkal atau peredam radikal bebas. Peredam radikal bebas ini berupa senyawa antioksidan. Kegunaan utama dari senyawa antioksidan adalah untuk menghentikan atau memutus reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat dalam tubuh (Hernani, 2006).

Di dalam tubuh sebenarnya sudah terdapat senyawa antioksidan yaitu berupa antioksidan enzimatis, seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, glutathion peroksidase (GSH-PX), serta glutathion reduktase (GSH-R) yang berfungsi untuk meredam radikal bebas. Namun karena terjadi paparan yang terus-menerus menyebabkan antioksidan enzimatis tidak cukup mampu untuk meredam radikal bebas tersebut sehingga dibutuhkan antioksidan dari luar yaitu antioksidan sekunder yang

dapat membantu peran antioksidan enzimatis dalam tubuh. Antioksidan sekunder ini berasal dari tanaman (Winarsi, 2007). Senyawa antioksidan alami pada tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yaitu golongan flavonoid seperti isoflavon (Barnes, 2010).

Isoflavon banyak terdapat pada tanam-tanaman khususnya dari golongan *Leguminosae*, biji-bijian dan padi-padian, dari berbagai tanaman tersebut isoflavon paling banyak terdapat dalam *Glycine max* (L.) Merr. (Winarsi, 2007), yang mengandung isoflavon berkisar antara 2-4 mg/g *Glycine max* (L.) Merr. (Wahyuni, 2012) sementara menurut Koswara, 2005 kandungan isoflavon dalam 100 gram *Glycine max* (L.) Merr. utuh berkisar antara 130-380 mg. Ekstrak tempe yang berbahan baku *Glycine max* (L.) Merr, terbukti memiliki aktivitas antioksidan dan juga memiliki efek pada aktivitas enzim antioksidan di dalam hepar (Hu dkk, 2004).

Kandungan isoflavon dari *Glycine max* (L.) Merr. itu bervariasi sehingga mempengaruhi aktivitas biologisnya, hal ini disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya varietas. Di Indonesia terdapat 78 varietas kedelai, salah satunya adalah varietas Argomulyo. Argomulyo merupakan salah satu varietas unggul yang ada di Indonesia selain itu Argomulyo juga digunakan dalam kehidupan sehari-hari manusia sebagai bahan baku susu kedelai (Puslitbang Tanaman Pangan, 2007). Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas biologis *Glycine max* (L.) Merr. Varietas Argomulyo.

2. Metode Penelitian

2.1 Bahan Penelitian

Biji *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo, metanol 90% (teknis), n-Heksan, CMC-Na, vitamin C (kadar 99,5% dari Fluka AG, *Chemische Fabril CH-9470 Busch SG*, p.a), Pb Asetat (p.a), eter, *phosfat buffer solution* (PBS), formalin, *haematoxylin-eosin* (HE), parafin dan akuadem.

2.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain maserasi kinetik (*Stirring Motor* IKA Rw 20 N), *rotary evaporator* (BUCHI *Rotavapor* R-114), *water bath electric* (BUCHI *Waterbath* B-480), pengayak Mesh 20, timbangan, spektrofotometer Ultra Violet-Visible (UV-Vis), spektrofotometer *atomic absorption spectroscopy* (AAS), dan alat-alat gelas laboratorium.

2.3 Hewan Percobaan

Mencit (*Mus musculus*) strain BALB/C, jantan, dewasa, umur 10 minggu, berat badan 25-35gram, sehat fisik dengan ciri-ciri bermata jernih, bulu mengkilat dan bergerak aktif.

2.4 Pembuatan Ekstrak Metanol *Glycine max* (L.) Merr. Varietas Argomulyo

Serbuk Biji *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo awalnya dimaserasi dengan n-heksan sebanyak 1 liter menggunakan alat maserasi kinetik, kemudian dilakukan pendiaman selama 24 jam. Hasil pendiaman tersebut kemudian disaring. Sisa

ampas yang ada dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, kemudian ampas kering dimaserasi menggunakan metanol 90% (teknis) sebanyak 1 liter menggunakan alat maserasi kinetik. Hasil pendiaman kemudian disaring ke dalam wadah penampung, ampasnya lalu diremaserasi dengan cara yang sama sebanyak 3 kali. Hasil ekstraksi dikumpulkan dalam 1 wadah. Kemudian ekstrak cair tersebut dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*.

2.5 Pengkondisian dan Adaptasi Hewan Coba

Hewan coba dikondisikan selama kurang lebih tujuh hari sebelum perlakuan (DirJen POM, 1991). Seluruh mencit diberi pakan *poor 511* dan minum akuadem 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.

2.6 Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Hewan coba mencit digunakan sebanyak 25 ekor dikelompokkan secara acak ke dalam lima kelompok: kelompok plasebo, kelompok kontrol positif, kontrol negatif, kelompok uji, dan kelompok pembanding, masing-masing 5 ekor mencit. Mencit kecuali kelompok plasebo, diberi Pb asetat dengan dosis 25 mg/kgBB/oral/mL/hari dengan bantuan sonde selama 7 hari kecuali kelompok plasebo dan kontrol positif hanya diberi akuadem sebanyak 1 mL selama 7 hari sebagai pengganti Pb. Setelah melewati tahapan intoksikasi, hewan coba kemudian diberi perlakuan. Untuk kelompok plasebo diberi *akuadem* sebanyak 1 mL, kelompok kontrol negatif diberi suspensi mucilago CMC Na 0,5% sebanyak 1 mL, kelompok kontrol positif dan uji diberi suspensi ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo dengan dosis 6,45 mg ekstrak/mL. Kelompok pembanding masing-masing mencit memperoleh suspensi vitamin C dengan dosis 64 mg/kgBB/oral/mL/hari. Ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo yang diberikan, dipastikan tidak mengandung metanol terlebih dahulu. Setelah perlakuan selama 7 hari, hewan coba kemudian dieutanasia dengan rute inhalasi menggunakan eter.

2.7 Analisis Kadar Pb Dalam Darah Mencit

Darah mencit diambil melalui rute *intracardiac* menggunakan spuit injeksi 1,0 mL. Penentuan kadar Pb dilakukan pada akhir treatment (*end phase*) dengan menggunakan *atomic absorption spectroscopy* (AAS). Kadar Pb dinyatakan dalam satuan ppm (*part per million*).

2.8 Gambaran Histologi Hepar

Pengamatan dilakukan dengan melihat sel yang mengalami nekrosis, ditandai dengan inti sel yang berwarna hitam dan sitoplasma yang berwarna ungu karena terwarnai dengan *hematoxylin-eosin* (HE). Pengamatan dilakukan dalam empat lapangan pandang yang berbeda dengan perbesaran 400 kali. Setiap lapangan pandang dilihat apakah ada sel.

$$\% \text{Kerusakan sel} = \frac{\text{Jumlah sel rusak}}{\text{Jumlah sel total}} \times 100\%$$

2.9 Teknik Analisis Data

Analisis statistik menggunakan metode *one way ANOVA* ($\alpha = 0,05$), dengan perangkat lunak SPSS versi 20. Jika ada perbedaan antara kelima kelompok tersebut maka dilakukan lagi tes lanjutan, yaitu *post hoc test* (LSD) untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan bermakna antar kelompok uji satu dan yang lain.

3. Hasil Dan Pembahasan

3.1 Identifikasi Bahan

Hasil identifikasi bahan adalah biji *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo yang telah tersertifikasi oleh UPBS (Unit Pengelolaan Benih Sumber) BALITKABI (Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian), Malang.

3.2 Hasil Analisis Kadar Pb Dalam Darah Mencit

Hasil analisis kadar Pb dalam darah mencit tersebut dapat dilihat pada Tabel 1. Analisis statistik didapat nilai signifikansi sebesar 0,304 sehingga dapat disimpulkan dari kelima kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan kadar Pb yang bermakna. Kemudian dilakukan tes lanjutan *post hoc test* (LSD) didapatkan hasil yang signifikan hanya pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok pembanding, sedangkan pada kelompok yang lain tidak menunjukkan hasil yang signifikan.

Tabel 1. Hasil Analisis Kadar Pb dalam Darah Mencit (ppm)

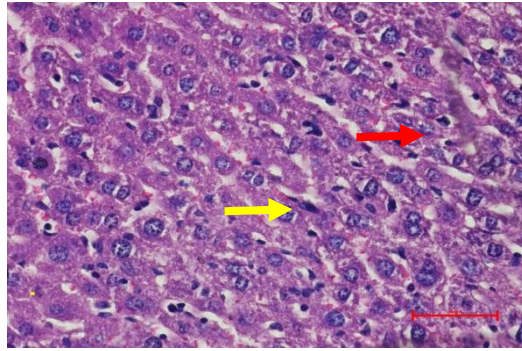
Plasebo	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Kelompok Uji	Pembanding
0,272	0,404	0,307	0,394	0,324
0,288	0,380	0,238	0,282	0,382
0,302	0,393	0,359	0,301	0,188
0,318	0,294	0,292	0,297	0,278
0,348	0,288	0,381	0,362	0,182
$\bar{X} = 0,306$	$\bar{X} = 0,352$	$\bar{X} = 0,315$	$\bar{X} = 0,327$	$\bar{X} = 0,271$
SD = 0,029	SD = 0,056	SD = 0,057	SD = 0,048	SD = 0,087

3.3 Hasil Analisis Histologi Hepar Mencit

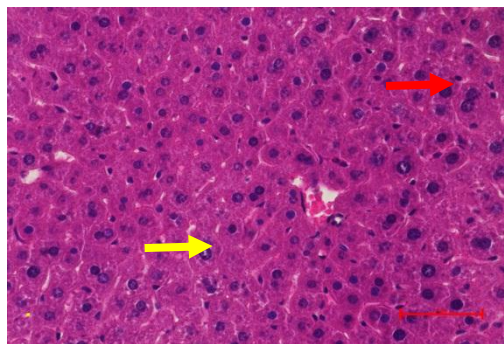
Hasil analisis histologi hepar pada kelima kelompok mencit tersebut dapat dilihat pada Tabel 2 dan pada Gambar 1 sampai Gambar 5.

Tabel 2. Hasil Analisis Histologi Hepar Mencit (% Kerusakan Sel)

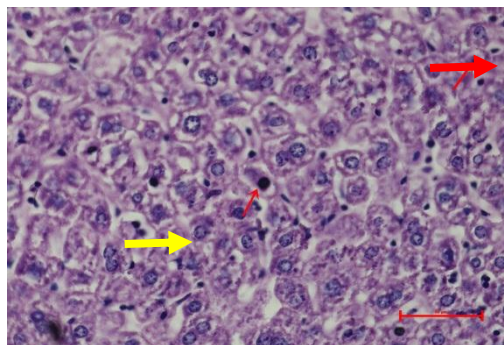
Plasebo	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Kelompok Uji	Pembanding
6,25	51,43	11,11	23,53	9,86
3,90	46,91	12,68	24,42	13,16
6,41	43,68	11,69	22,37	9,72
3,70	44,05	8,86	16,88	-
5,19	51,47	11,11	24,69	-
$\bar{X} = 5,09$	$\bar{X} = 49,508$	$\bar{X} = 11,09$	$\bar{X} = 22,378$	$\bar{X} = 10,913$
SD = 1,269	SD = 5,614	SD = 1,402	SD = 3,204	SD = 1,947



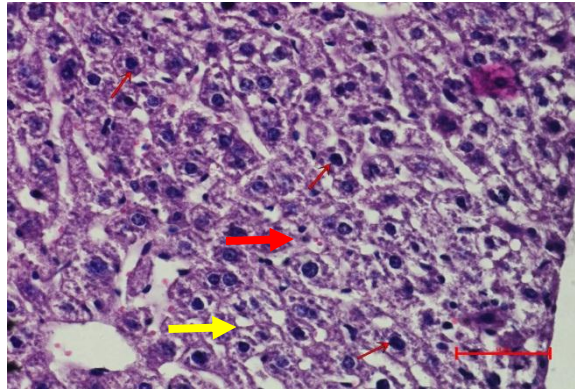
Gambar 1. Hasil pengamatan histologi sel hepar kelompok plasebo dengan pewarna HE
(keterangan: → = sel normal, → = sel mengalami kerusakan, = skala 50 μm)



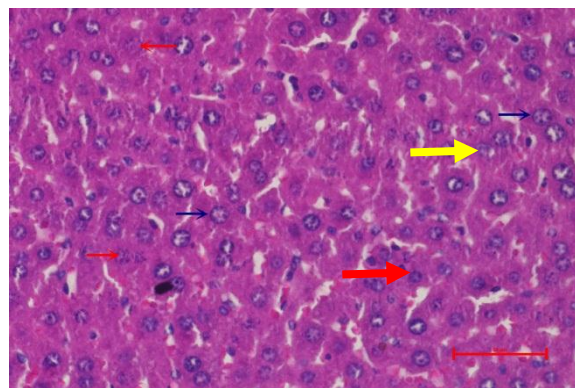
Gambar 2. Hasil pengamatan histologi sel hepar kelompok kontrol negatif dengan pewarna HE
(keterangan: → = sel normal, → = sel mengalami kerusakan, = skala 50 μm)



Gambar 4. Hasil pengamatan histologi sel hepar kelompok kontrol positif dengan pewarna HE
(keterangan: → = sel normal, → = sel mengalami kerusakan, = skala 50 μm)



Gambar 5. Hasil pengamatan histologi sel hepar kelompok uji dengan pewarna HE (keterangan: → = sel normal, → = sel mengalami kerusakan, — = skala 50 μm)



Gambar 6. Hasil pengamatan histologi sel hepar kelompok pembandingan dengan pewarna HE

(keterangan: → = sel normal, → = sel mengalami kerusakan, — = skala 50 μm)

Dari hasil *One Way ANOVA* antar kelompok diketahui signifikansi = 0,000 sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan persen kerusakan sel hepar yang bermakna antara kelima kelompok tersebut.

Signifikansi antara kelompok kontrol negatif dan kelompok uji sebesar 0,000 yang menunjukkan terdapat perbedaan persen kerusakan sel hepar yang signifikan antara kedua kelompok tersebut. Pada hasil rata-rata persen kerusakan sel hepar dapat dilihat bahwa persen kerusakan sel hepar kelompok uji lebih rendah daripada kelompok kontrol negatif sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo efektif dalam mengurangi kerusakan sel hepar. Hal yang serupa juga diperoleh ketika membandingkan kelompok kontrol negatif dengan kelompok pembandingan yaitu ditunjukkan melalui signifikansi sebesar 0,000. Hal ini menggambarkan efektivitas vitamin C dalam menurunkan kerusakan sel hepar.

Kelompok uji dan kelompok pembandingan menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai signifikansi 0,000. Persen kerusakan sel hepar pada kelompok uji lebih besar dibanding dengan pada kelompok pembandingan hal ini menunjukkan bahwa vitamin C lebih efektif dalam mengurangi kerusakan sel hepar dibanding dengan ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. varietas Argomulyo.

4. Simpulan Dan Saran

Ekstrak *Glycine max*(L.) Merr. varietas Argomulyo efektif dalam mengurangi kerusakan sel hepar pada mencit yang telah terintoksikasi Pb dengan potensi lebih rendah daripada vitamin C.

Daftar Pustaka

- Arisusanti RR, Purwani KI. Pengaruh Mikoriza *Glomus fasciculatum* terhadap Akumulasi Logam Timbal (Pb) pada Tanaman Dahlia pinnata. JURNAL SAINS dan SENI POMITS. 2013; 2 (2): 2337-3520.
- Asih IARA. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon Dari Kacang Kedelai (*Glycine max*). Jurnal Kimia. 2009; 3 (1): 33-40.
- Aussenac T. Lacombe S. and Dayde J. Quantification of Isoflavones by Capillary Zone Electrophoresis in Soybean Seeds. Effect of Variety and Environment. Am. J. Clin. Nutr. 1988; 68: 1480-85.
- Barnes SP. Lymphatic Research and Biology, The Biochemistry, Chemistry and Physiology of the Isoflavones in Soybeans and their Food Products; 2010
- Dirjen POM. Prosedur Operasional Baku Uji Toksisitas, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan R. I; 1991: 1-26
- Harbone JB. The Flavonoid : Advances in Research Since 1986. London; Chapman & Hall, Inc; 1996.
- Hernani, Rahardjo M. Tanaman Berkhasiat Antioksidan. Jakarta: Penebar Swadaya; 2006; 1-20.
- Hu, Chih-Chieh, Hsiao, Ching-Huang, et al. Antioxidant Activity of Fermented Soybean Extract. *J. Agric. Food Chem.* 2004; 52 (18): 5735–39
- Koswara S. Teknologi Pengolahan Kedelai, Jakarta: Pustaka Sinar Harapan; 1992.
- Koswara S. Isoflavon, Senyawa Multi-manfaat dalam Kedelai. Department of Food Science and Technology. IPB; 2005
- Mazur WM., J.A. Duke, K. Wahata, S. Rasku, and H. Adlercreutz. Isoflavonoids and Lignans in Legume : Nutritional and Health Aspects in Humans. *J Nutr Biochem* 9. 1998; 193-200.
- Pratt DE. B.J.F Hudson. Natural Antioxidants not Exploited Commercially. Di dalam : B.J.F. Hudson, editor. Food Antioxidants. Elsevier Applied Science. London; 1990.
- Priyadi S, Darmaji P, Santoso U, et al. Khelasi Plumbum (Pb) dan Cadmium (Cd) Menggunakan Asam Sitrat Dari Biji Kedelai. AGRITECH. 2013; 33 (4); 407-14
- Puslitbang Tanaman Pangan. Daftar Varietas Unggul Kedelai Deskripsi Kedelai Varietas Argomulyo, pangan.litbang.deptan.go.id, www.puslittan.bogor.net; 2007.
- Santosa MH. Uji Toksisitas Akut Dan Subakut Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Air Kulit Batang *Artocarpus Champeden Spreng* Dengan Parameter Histopatologi Hati Mencit. *Majalah Farmasi Airlangga*; 2005. 91-95.
- Shahidi F. M Nacz. Food Phenolics. Technomic. Lavester-Basel: Pub. Co. Inc; 1995.
- Tsukamoto C, Shimada SIK, Kudou S, Kokubun M, Okubo K, Kitamura K. Factors Effecting Isoflavones Content in Soybean Seeds : Changes in Isoflavones, Saponins, and Composition of Fatty Acids at Different Temperatures During Seed Development. 1995; 43; 1184 – 92.
- Wahyuni, Rika S. Pengaruh Isoflavon Kedelai Terhadap Kadar Hormon Testosteron Berat Testis Diameter Tubulus Seminiferus dan Spermatogenesis Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). Tesis. Program Studi Ilmu Biomedik; 2012

Widowati W, Sastiono A, Jusuf R. Efek Toksik Logam. Bandung: Andi Yogyakarta; 2008

Winarsi H. antioksidan alami dan radikal bebas : potensi dan aplikasinya dalam kesehatan, kanisius, yogyakarta; 2007. 11-23, 77-82.