The Effectiveness of Castor Bean Leaves *(Ricinus communis* L.*)* in Reducing Lead (Pb) Levels in Wistar Rats *(Rattus norvegicus) In Vivo* [Efektivitas Ekstrak Daun Jarak Kepyar (*Ricinus communis* L.) terhadap Penurunan Kadar Logam Berat Timbal (Pb) pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) secara *In Vivo*]

Aisyah Naia Khanza Sybilla[1)] Galuh Ratmana Hanum[1)*] Jamilatur Rohmah[1)]

[1)]Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia
*Email Penulis Korespondensi: galuhratmanahanum@umsida.ac.id

Abstract*. Lead (Pb) is a heavy metal that can accumulate in the body and cause various health problems. This study aimed to determine the potential of castor bean leaf extract (Ricinus communis L.) to reduce blood Pb levels in Wistar rats (Rattus norvegicus) in vivo. Castor bean leaves were collected from two locations, Jagir and Lokapasar, Krian, Sidoarjo. Leaves from both locations were combined after drying before extraction, while phytochemical screening was performed separately on each source and showed the same results. This study used a laboratory experimental method with a pretest-posttest control group design. A total of 24 male Wistar rats were divided into six groups: negative control, positive control, 0.5% Na-CMC control, and treatment groups receiving castor bean leaf extract at doses of 250, 500, and 750 mg/kg body weight. The rats were orally induced with lead acetate at a dose of 700 mg/kg body weight for 8 days, followed by extract treatment for 14 days. Blood Pb levels were measured before and after treatment using Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS) at a wavelength of 217 nm. The results showed a decrease in Pb levels in all groups. The 250, 500, and 750 mg/kg body weight groups showed decreases of 0.1442, 0.2221, and 0.3224 mg/L, respectively. The greatest decrease was observed at the 750 mg/kg body weight dose, from 0.4307 ± 0.0177 mg/L to 0.1083 ± 0.0014 mg/L. The Wilcoxon test showed that the change in Pb levels was not statistically significant (p=0.068; p>0.05). In conclusion, castor bean leaf extract showed a tendency to reduce blood Pb levels, with the greatest decrease observed at a dose of 750 mg/kg body weight, although the difference was not statistically significant.*

Keywords – *Ricinus communis* L.*;Pb;Rats; Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS).*

Abstrak. Timbal (Pb) merupakan logam berat yang dapat terakumulasi dalam tubuh dan menimbulkan berbagai gangguan kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak daun jarak kepyar (*Ricinus communis* L.) terhadap penurunan kadar Pb dalam darah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) secara *in vivo*. Daun Jarak Kepyar diperoleh dari dua lokasi, yaitu Jagir, Kota Surabaya dan Krian, Kabupaten Sidoarjo. Daun dari kedua lokasi digabungkan setelah proses pengeringan sebelum dilakukan ekstraksi, sedangkan uji fitokimia dilakukan secara terpisah pada masing-masing sumber bahan dan menunjukkan hasil yang sama. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorik dengan pendekatan pretest-posttest control group design. Sebanyak 24 ekor tikus Wistar jantan dibagi menjadi enam kelompok, yaitu kontrol negatif, kontrol positif, kontrol Na-CMC 0,5%, serta kelompok perlakuan ekstrak daun jarak kepyar dosis 250, 500, dan 750 mg/kgBB. Tikus mengalami tahap aklimatisasi selama 7 hari terlebih dahulu, dilanjutkan dengan proses diinduksi Pb asetat dengan dosis 700 mg/kgBB secara oral selama 7 hari, kemudian diberikan perlakuan ekstrak selama 14 hari. Kadar Pb darah diukur sebelum dan sesudah perlakuan *Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS)* pada panjang gelombang 217 nm. Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan kadar Pb pada seluruh kelompok. Kelompok dosis 250, 500, dan 750 mg/kgBB masing-masing mengalami penurunan sebesar 0,1442 mg/L, 0,2221 mg/L, dan 0,3224 mg/L. Penurunan terbesar terdapat pada dosis 750 mg/kgBB, yaitu dari 0,4307 ± 0,0177 mg/L menjadi 0,1083 ± 0,0014 mg/L. Hasil uji *Wilcoxon* menunjukkan perubahan kadar Pb belum signifikan secara statistik (p=0,068; p>0,05). Kesimpulannya, ekstrak daun jarak kepyar menunjukkan kecenderungan menurunkan kadar Pb darah, dengan penurunan terbesar pada dosis 750 mg/kgBB, tetapi belum menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik.

Kata Kunci – *Ricinus communis* L.*;* Timbal; Tikus; *Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS).*

Copyright © Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. This preprint is protected by copyright held by Universitas Muhammadiyah Sidoarjo and is distributed under the Creative Commons Attribution License (CC BY). Users may share, distribute, or reproduce the work as long as the original author(s) and copyright holder are credited, and the preprint server is cited per academic standards.
Authors retain the right to publish their work in academic journals where copyright remains with them. Any use, distribution, or reproduction that does not comply with these terms is not permitted..

I. Pendahuluan

Pencemaran logam berat akibat aktivitas industri masih menjadi permasalahan lingkungan yang serius, terutama pada ekosistem perairan. Logam berat menjadi perhatian karena bersifat persisten, mudah terakumulasi dalam organisme hidup, dan memiliki tingkat toksisitas yang tinggi. Secara ilmiah, logam berat merupakan kelompok unsur yang memiliki massa jenis tinggi sebesar 11,34 g/cm³ dan nomor atom 207,2 [1]. Selain itu, logam berat bersifat persisten dan *non-biodegradable* sehingga dapat bertahan lama di lingkungan serta berdampak terhadap kesehatan manusia.[2]. Salah satu logam berat yang paling berbahaya adalah timbal (Pb) karena tidak memiliki fungsi biologis dalam tubuh dan dapat menimbulkan berbagai gangguan kesehatan [3]. Paparan Pb diketahui dapat menyebabkan kerusakan sistem saraf, gangguan fungsi ginjal, serta penurunan kemampuan kognitif [4]. Timbal (Pb) yang masuk melalui jalur oral, inhalasi, maupun absorpsi kulit akan terdistribusi melalui darah dan mengalami akumulasi terutama pada tulang dengan waktu paruh lebih dari 20 tahun, sedangkan paparan kronis dengan peningkatan kadar Pb darah sekitar 20–50 µg/dL telah dikaitkan dengan gangguan sistem saraf, penurunan fungsi kognitif, serta gangguan ginjal akibat stres oksidatif dan kerusakan seluler [5].

Di Indonesia, pencemaran timbal (Pb) telah dilaporkan pada berbagai wilayah pesisir, termasuk Aceh, Banten, DKI Jakarta, Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Jawa Timur [6]. Di Jawa Timur, kandungan Pb pada sedimen pesisir Kabupaten Gresik dilaporkan mencapai 8,79 mg/kg. Nilai tersebut mendekati batas acuan kandungan Pb pada sedimen sebesar 9,73 mg/kg berdasarkan National Research Center for Certified Reference Materials (NRCCRM) GBW07313 (1993), sehingga keberadaan Pb di lingkungan perairan berpotensi berpindah dan terakumulasi pada organisme akuatik melalui rantai makanan [7]. Selain itu, pada wilayah tambak Sedati, Kabupaten Sidoarjo, ditemukan akumulasi Pb pada biota perairan dengan konsentrasi sekitar 3,1 mg/kg yang telah melebihi batas maksimum cemaran Pb dalam pangan berdasarkan SNI 7387:2009 sebesar 1,5 mg/kg [8]. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa timbal telah terakumulasi dalam organisme perairan dan berpotensi masuk ke dalam rantai makanan sehingga meningkatkan risiko paparan pada organisme tingkat lebih tinggi.[9].

Akumulasi Pb yang terjadi secara berulang di dalam tubuh dapat meningkatkan beban logam dalam jaringan dan memicu gangguan pada berbagai organ. Setelah masuk ke dalam tubuh, Pb akan mengalami distribusi melalui sirkulasi darah menuju berbagai jaringan dan berinteraksi dengan komponen seluler, mengganggu aktivitas enzim, serta meningkatkan pembentukan *Reactive Oxygen Species (ROS)* yang memicu terjadinya stres oksidatif. Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu pada manusia dan hewan yang menunjukkan bahwa paparan Pb berhubungan dengan berbagai efek toksik akibat sifatnya yang persisten dan kemampuannya mengganggu proses fisiologis normal dalam tubuh [10].

Pengurangan paparan Pb tidak hanya dapat dilakukan melalui pengendalian sumber pencemar di lingkungan, tetapi juga perlu mempertimbangkan upaya mengurangi beban Pb yang telah masuk ke dalam tubuh. Salah satu pendekatan medis yang digunakan pada kondisi keracunan Pb tertentu adalah terapi kelasi. Agen kelasi bekerja dengan cara berikatan dengan ion Pb sehingga membentuk kompleks yang lebih stabil dan dapat dieliminasi dari tubuh. Namun, penggunaan terapi kelasi perlu mempertimbangkan tingkat paparan, kondisi klinis, serta potensi efek samping karena terapi ini tidak selalu diberikan pada seluruh kondisi paparan Pb [11]. Kondisi tersebut mendorong penelitian terhadap bahan alam yang memiliki kandungan metabolit sekunder, terutama senyawa fenolik dan flavonoid, yang berpotensi berinteraksi dengan ion logam.

Kemampuan bahan alam dalam berinteraksi dengan ion logam telah banyak dikaji melalui berbagai pendekatan adalah adsorpsi karena relatif sederhana, efektif, dan ekonomis [12]. Dalam perkembangannya, bahan alami mulai banyak dimanfaatkan karena lebih ramah lingkungan, mudah diperoleh dan memiliki kandungan senyawa aktif seperti gugus fenolik, hidroksil, dan karboksil yang mampu mengikat logam berat [13]. Salah satu tanaman yang berpotensi dimanfaatkan adalah jarak kepyar (*Ricinus communis* L). Berdasarkan penelitian sebelumnya, *Ricinus communis L.* telah dilaporkan memiliki kemampuan dalam berinteraksi dengan logam berat. Khususnya timbal (Pb), terutama pada bagian biji dan kulit bijinya. Penelitian menunjukkan bahwa kulit biji *Ricinus communis* mampu menurunkan kadar Pb dalam air pada kisaran 80–95% melalui mekanisme adsorpsi ion logam, sedangkan biji secara umum juga menunjukkan kemampuan pengikatan logam berat yang cukup tinggi sebesar 72,26% [14]. Temuan ini memperkuat bahwa tanaman jarak kepyar memiliki potensi dalam mengurangi kadar logam berat khususnya Pb, meskipun masih terbatas pada sistem lingkungan (*In Vitro*).

Berbeda dengan bagian biji, penelitian menunjukkan bahwa daun *Ricinus communis L.* memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan bagian akar, batang, biji, dan buah. Aktivitas antioksidan pada daun dilaporkan berada pada kisaran ±70–80% (berdasarkan uji DPPH), yang lebih tinggi dibandingkan bagian lain tanaman jarak kepyar yang umumnya berada di bawah kisaran tersebut [15]. Tingginya aktivitas antioksidan pada daun *Ricinus communis* L. mengindikasikan adanya kandungan senyawa bioaktif yang berperan dalam aktivitas tersebut, terutama kelompok senyawa fenolik dan

Copyright © Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. This preprint is protected by copyright held by Universitas Muhammadiyah Sidoarjo and is distributed under the Creative Commons Attribution License (CC BY). Users may share, distribute, or reproduce the work as long as the original author(s) and copyright holder are credited, and the preprint server is cited per academic standards.
Authors retain the right to publish their work in academic journals where copyright remains with them. Any use, distribution, or reproduction that does not comply with these terms is not permitted..

flavonoid. Senyawa fenolik dan flavonoid diketahui menjadi salah satu komponen utama yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan tanaman karena memiliki gugus hidroksil yang mampu mendonorkan elektron untuk menetralisasi radikal bebas[16]. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun biji dan kulit biji lebih banyak diteliti dalam konteks pengikatan logam berat, daun memiliki potensi yang lebih kuat dalam menghadapi paparan toksikan seperti Pb.

Penelitian pada spesies lain dalam famili yang sama, Euphorbiaceae, juga mendukung adanya potensi efek biologis terhadap paparan Pb secara *in vivo*. Penelitian melaporkan bahwa ekstrak daun *Jatropha curcas* pada Tikus Wistar yang diinduksi timbal mampu memperbaiki gangguan fungsi ginjal yang ditandai dengan penurunan kadar urea dan kreatinin serta perbaikan struktur histologis ginjal. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa aktif pada tanaman famili Euphorbiaceae memiliki potensi dalam membantu mengurangi dampak toksik Pb melalui mekanisme antioksidan dan perlindungan organ [17]. Penelitian sebelumnya masih memiliki keterbatasan, seperti evaluasi efek perlindungan organ, tanpa adanya penilaian langsung terhadap penurunan kadar Pb dalam darah secara spesifik.

Ekstrak daun *Ricinus communis* L. diperoleh menggunakan metode maserasi, yaitu teknik ekstraksi dengan perendaman simplisia dalam pelarut pada suhu ruang untuk memperoleh senyawa aktif yang bersifat termolabil, seperti flavonoid dan fenolik [18]. Selanjutnya, penentuan kadar timbal (Pb) pada sampel darah atau jaringan tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) dilakukan menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS) karena sesuai untuk analisis kadar Pb secara spesifik pada sampel biologis, dengan keunggulan berupa selektivitas yang baik, metode yang relatif sederhana, serta telah banyak digunakan dalam penelitian terkait penentuan logam berat. [19].

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun jarak kepyar (*Ricinus communis* L.) dalam menurunkan kadar logam berat timbal (Pb) serta melihat keefektifitasan dosis terhadap penurunan Pb secara *in vivo* pada tikus Wistar. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi daun jarak kepyar sebagai agen alami dalam penurunan kadar Pb dalam sistem biologis, serta menjadi alternatif pendekatan yang lebih ramah lingkungan dalam penanganan paparan logam berat.

II. Metode

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga dengan nomor sertifikat 0470/HRECC.FODM/V/2026. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorik menggunakan pendekatan *pretest – postest control group design* untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun jarak kepyar terhadap penurunan kadar timbal (Pb) dalam darah tikus wistar yang telah di induksi Pb secara *in vivo*. Penelitian ini dilaksanakan pada Mei-Juni 2026 di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Hewan Uji Coba Fakultas Ilmu Kesehatan dan Psikologi Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Proses pengujian determinasi tanaman di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, uji fitokimia dan proses evaporasi dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Prodi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya dan Pengujian AAS dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Prodi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya.

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun Jarak Kepyar *(Ricinus communis* L.*)* yang diperoleh dari wilayah Jagir, Kota Surabaya dan Krian, Kabupaten Sidoarjo, serta tikus putih jantan galur wistar *(Rattus norvegicus* sebanyak 24 ekor diperoleh dari peternakan hewan coba di Buduran, Sidoarjo. Penelitian ini menggunakan tikus jantan galur Wistar dengan berat badan 150–200 gram yang memenuhi kriteria inklusi berupa kondisi sehat, usia 2 bulan, aktif secara klinis, serta tidak menunjukkan gejala penyakit maupun cacat fisik selama masa aklimatisasi 7 hari sebelum perlakuan. Kriteria eksklusi meliputi tikus yang mati selama proses aklimatisasi, mati sebelum seluruh rangkaian penelitian selesai, atau mengalami luka maupun infeksi selama periode penelitian. Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan ekstrak daun jarak kepyar 250mg/kgBB (D1), kelompok perlakuan ekstrak daun kepyar dosis 500mg/kgBB (D2), dan kelompok perlakuan ekstrak daun kepyar dosis 750mg/kgBB (D3) dengan masing masing kelompok terdiri atas 4 ekor.

Alat dan bahan yang digunakan meliputi wadah makan, minum dan kandang untuk hewan coba, timbangan digital dan analitik Ohaus, sendok zat, *rotary vacuum evaporator* (BUCHI R-215), blender, tabung reaksi, tabung cokelat 500 ml, tabung cokelat 300 ml, jar maserasi, gelas ukur 500 ml, labu erlemneyer 500 ml, gelas ukur Spektrofotometer AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*) Shimadzu AA-7000, sonde lambung, labu ukur, gelas beaker, pipet, sendok zat, tabung kapiler, *syringe needle*, vaccuntainer EDTA 3 cc, pipet volume 100 ml, kertas saring, corong ukur, botol vial, *hotplate*, lemari asam Daun jarak kepyar kering, etanol 96% (teknis), larutan Pb asetat (Merck,p.a.), aquades (teknis), tikus Wistar

Copyright © Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. This preprint is protected by copyright held by Universitas Muhammadiyah Sidoarjo and is distributed under the Creative Commons Attribution License (CC BY). Users may share, distribute, or reproduce the work as long as the original author(s) and copyright holder are credited, and the preprint server is cited per academic standards.
Authors retain the right to publish their work in academic journals where copyright remains with them. Any use, distribution, or reproduction that does not comply with these terms is not permitted..

jantan, Na-CMC 0,5% (CDH, p.a.), sekam padi yang didapatkan dari Larangan, Sidoarjo, pakan standart dan minum yang didapatkan dari Larangan, Sidoarjo, sampel darah tikus, Alkohol 70% dan 96% (Bratachem,teknis), Serbuk Mg (Bratachem, p.a.), HCl (Bratachem, p.a.), Aquades (teknis), $FeCl_3$ (Bratachem, p.a.) $CHCl_3$ (Bratachem, p.a.), H_2SO_4, HNO_3 68% (p.a.), NH_3 (Bratachem, p.a.), Reagen Lieberman-Burchard, reagen Mayer, reagen Dragendorff, dan reagen Wagner (Bratachem, p.a.)

Ekstrak daun jarak dibuat menggunakan metode maserasi. Daun jarak segar sebanyak 900 gram dikeringkan terlebih dahulu hingga berwarna kecoklatan, kemudian dihaluskan dengan cara diblender sampai menjadi serbuk simplisa. Serbuk yang didapatkan dimaserasi sebanyak 300 gram menggunakan 1L etanol 96% selama 3x24 jam dengan penggantian dan pengadukan pelarut setiap 24 jam untuk mengoptimalkan proses ekstraksi senyawa aktif. Setelah itu, ekstrak disaring dan diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 44°C dengan kecepatan 35 rpm hingga diperoleh ekstrak kental [20].

Identifikasi fitokimia pada penelitian ini dilakukan berdasarkan metode Harborne (1987) dan Edeoga et al. (2005) untuk mengetahui keberadaan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak daun jarak kepyar. Identifikasi alkaloid dilakukan dengan mencampurkan ±1 mL sampel dengan kloroform dan amonia, kemudian filtrat yang diperoleh diuji menggunakan pereaksi Meyer, Wagner, dan Dragendorff, dengan hasil positif ditandai terbentuknya endapan putih, cokelat, dan jingga. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan mencampurkan ±1 mL sampel dengan etanol 70%, kemudian ditambahkan serbuk magnesium dan HCl pekat, dengan terbentuknya warna merah menunjukkan adanya flavonoid. Identifikasi saponin dilakukan melalui pemanasan sampel dengan 10 mL air, kemudian filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit, dengan terbentuknya busa stabil menunjukkan hasil positif. Identifikasi steroid dilakukan dengan menambahkan etanol 70%, asam sulfat pekat, dan asam asetat anhidrat (pereaksi Liebermann-Burchard), dengan perubahan warna ungu menjadi biru atau hijau menunjukkan adanya steroid. Identifikasi triterpenoid dilakukan dengan penambahan kloroform dan asam sulfat pekat, ditandai dengan terbentuknya warna merah kecoklatan pada batas antarpermukaan. Sementara itu, identifikasi tanin dilakukan melalui pemanasan sampel dengan air dan penambahan pereaksi $FeCl_3$ 1%, dengan perubahan warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin [21].

Penelitian ini dilakukan selama 31 hari yang terdiri atas tiga tahap, yaitu tahap aklimatisasi, induksi Pb asetat, dan pemberian perlakuan ekstrak daun jarak kepyar. Pada hari ke-1 sampai hari ke-7, tikus dilakukan aklimatisasi dengan pemberian pakan pelet standar dan minum pada seluruh kelompok. Selanjutnya, pada hari ke-8 sampai hari ke-15 dilakukan induksi Pb asetat secara oral untuk membentuk kondisi *lead intoxication model* dan diberi pakan serta minum. Setelah proses induksi selesai, pada hari ke-16 sampai hari ke-29 dilakukan pemberian perlakuan berupa ekstrak daun jarak kepyar pada kelompok perlakuan menggunakan ekstrak Daun Jarak Kepyar (*Ricinus communis* L.) dimulai dari dosis 250 mg/KgBB (D1), dosis 500 mg/KgBB (D2), dan dosis 750 mg/KgBB (D3) dan diberi pakan serta minum.

Pembuatan larutan Pb asetat dilakukan dengan melarutkan Pb asetat dalam aquades hingga diperoleh dosis 700 mg/kgBB. Pemberian Pb asetat dilakukan secara oral sebanyak 1 mL selama periode induksi pada kelompok kontrol positif (K+), kontrol Na-CMC 0,5%, serta kelompok D1, D2, dan D3. Kelompok kontrol negatif (K−) tidak diberikan induksi Pb asetat hanya diberikan pakan dan minum. Setelah proses induksi Pb selesai, kelompok D1, D2, dan D3 diberikan ekstrak daun jarak kepyar (*Ricinus communis* L.) sebanyak 1 mL secara oral menggunakan teknik sonde lambung selama 14 hari serta pakan dan minum. Kelompok kontrol Na-CMC diberikan Na-CMC 0,5% sebanyak 1 mL, pakan, dan minum sebagai kontrol pembanding secara oral menggunakan teknik sonde lambung selama 14 hari, sedangkan kelompok kontrol positif tidak diberikan ekstrak maupun Na-CMC, hanya diberi pakan dan minum selama 14 hari.

Pengambilan sampel darah tikus pada vena orbital sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam tabung vacutainer EDTA yang dilakukan pada hari ke-16 (setelah induksi Pb asetat) dan hari ke-29 (setelah pemberian perlakuan). Sampel darah kemudian didestruksi menggunakan asam nitrat pekat (HNO_3) pada suhu 120°C hingga diperoleh larutan jernih setelahnya disaring sebanyak 2 pengulangan guna memastikan larutan sangat jernih. Selanjutnya, kadar timbal (Pb) dalam darah diukur menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS) berdasarkan kurva kalibrasi standar Pb [22]. Pengukuran Pb menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) Shimadzu AA-7000 diatur dan dijalankan sesuai prosedur operasional standar dengan spesifikasi Hollow Cathode lamp 33 (HCL) Pb, Gas Asetilen (C_2H_2), Laju alir asetilen 1,8-2,0 L/menit, laju alir udara 15 L/menit. Setiap larutan kerja yang telah disiapkan diukur pada panjang gelombang 217 nm.

Data hasil AAS yang sudah didapatkan dianalisis secara statistik menggunakan SPSS 25 pada tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,05$) untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Ricinus communis* L. terhadap penurunan kadar Pb dalam darah tikus wistar. Data dianalisis menggunakan uji normalitas *Shapiro–Wilk* dan uji homogenitas *Levene's Tes*t. Dilanjut menggunakan uji nonparametrik, yaitu *Wilcoxon* untuk melihat pengaruh yang signifikan antara dua data berpasangan.

Copyright © Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. This preprint is protected by copyright held by Universitas Muhammadiyah Sidoarjo and is distributed under the Creative Commons Attribution License (CC BY). Users may share, distribute, or reproduce the work as long as the original author(s) and copyright holder are credited, and the preprint server is cited per academic standards.
Authors retain the right to publish their work in academic journals where copyright remains with them. Any use, distribution, or reproduction that does not comply with these terms is not permitted..

III. Hasil dan Pembahasan

A. Preparasi Sampel

Determinasi tanaman terhadap sampel daun *Ricinus communis* L. asal Jagir dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur dengan nomor surat determinasi 000.9.3/1593/102.20/2026. Sementara itu, determinasi terhadap sampel daun *Ricinus communis* L. asal Krian dilakukan pada laboratorium yang sama dengan nomor surat determinasi 000.9.3/3605/102.20/2026 menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Ricinus communis* L. dari famili Euphorbiaceae. Tahap ini penting dilakukan untuk memastikan kebenaran identitas taksonomi tanaman yang digunakan karena identifikasi taksonomi yang tepat merupakan persyaratan utama dalam penelitian fitokimia [23]. Daun jarak kepyar diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dikarenakan etanol memiliki sifat semi-polar hingga polar [24] yang dapat melarutkan senyawa flavonoid dan fenolik yang terdapat pada tumbuhan [25]. Selama proses maserasi, pelarut akan berinteraksi dengan matriks simplisia melalui proses difusi dan pelarutan, sehingga senyawa bioaktif yang memiliki kesesuaian polaritas dengan pelarut dapat berpindah dari jaringan tanaman ke dalam larutan ekstrak [26]. Pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi selain karena terjangkau dan mudah, maserasi juga efektif dalam ekstraksi senyawa fenolik [27]. Dari proses ekstraksi diperoleh ekstrak kental sebanyak 31,376 gram dan menghasilkan rendemen sebesar 10,45%. Rendemen ekstrak yang melebihi 10% menunjukkan bahwa proses ekstraksi berlangsung secara optimal [28].

Rendemen ekstrak yang diperoleh menunjukkan bahwa proses ekstraksi telah berhasil menghasilkan ekstrak kental daun jarak kepyar. Namun, besarnya rendemen belum dapat menggambarkan jenis senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Oleh karena itu, dilakukan pengujian fitokimia. Pengujian fitokimia pada penelitian ini dilakukan secara bertahap terhadap sampel daun *Ricinus communis L.* asal Jagir dan Krian sebelum dilakukan penggabungan simplisia. Analisis awal dilakukan pada masing-masing sampel berdasarkan lokasi asal tanaman untuk memperoleh gambaran profil metabolit sekunder dari setiap lokasi. Pengujian fitokimia merupakan analisis kualitatif yang dilakukan untuk mengidentifikasi golongan metabolit sekunder dalam tanaman berdasarkan reaksi warna atau terbentuknya endapan setelah penambahan pereaksi tertentu [29]. Identifikasi ini penting karena metabolit sekunder merupakan senyawa bioaktif yang berperan dalam berbagai aktivitas farmakologis tanaman. Keberadaan metabolit sekunder tersebut berkontribusi terhadap berbagai aktivitas biologis ekstrak, terutama sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan imunomodulator yang mendukung efek farmakologis tanaman [30].

Hasil skrining fitokimia ekstrak daun Ricinus communis L. asal Jagir, Surabaya menunjukkan adanya beberapa golongan metabolit sekunder berdasarkan reaksi spesifik dengan masing-masing pereaksi uji.

Tabel 1**.** Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Jarak Kepyar

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil (Terbentuknya)	Kesimpulan (+/-)		
			Jarak Kepyar Jagir (A)	Jarak Kepyar Krian (B)	Jarak Kepyar Gabungan
Alkaloid	Mayer	Endapan Putih	+++	+++	+++
	Wagner	Endapan Coklat	+++	+++	+++
	Dragendorf	Endapan Jingga	+++	+++	+++
Flavonoid	Mg + HCl_{pekat}+ etanol	Warna Merah	+++	+++	+++
Saponin	-	Adanya busa stabil	++	++	++
Steroid	Libermann-Burchard	Ungu ke Biru/Hijau	+++	+++	+++
Triterpenoid	Kloroform + $H_2SO_{4\ pekat}$	Merah Kecoklatan	+++	+++	+++
Fenolik	NaCl 10 % + Gelatin 1%	Endapan Putih	+++	+++	+++
Tanin	$FeCl_3$ 1 %	Coklat Kehijauan	+++	+++	+++

Berdasarkan Tabel 1, diketahui bahwa ekstrak daun jarak kepyar *(Ricinus communis L.*) yang berasal dari Jagir, Surabaya dan Krian, Sidoarjo positif mengandung senyawa metabolit sekunder. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang melaporkan bahwa ekstrak daun *Ricinus communis* L. mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tanin [31]. Kesamaan profil

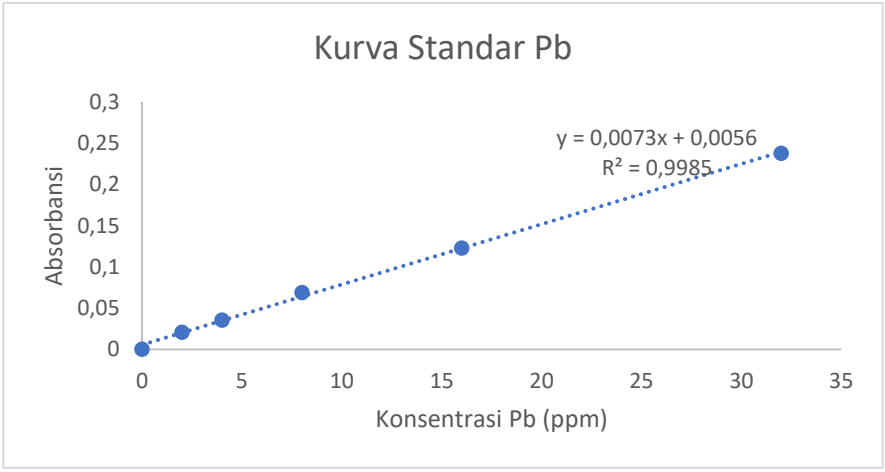
Copyright © Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. This preprint is protected by copyright held by Universitas Muhammadiyah Sidoarjo and is distributed under the Creative Commons Attribution License (CC BY). Users may share, distribute, or reproduce the work as long as the original author(s) and copyright holder are credited, and the preprint server is cited per academic standards.
Authors retain the right to publish their work in academic journals where copyright remains with them. Any use, distribution, or reproduction that does not comply with these terms is not permitted..

metabolit sekunder pada kedua sampel menunjukkan bahwa golongan senyawa tersebut terdeteksi pada daun jarak kepyar yang berasal dari lokasi tumbuh berbeda. Selanjutnya, dilakukan skrining fitokimia terhadap ekstrak hasil penggabungan simplisia dari kedua lokasi. Penggabungan dilakukan karena jumlah simplisia yang berasal dari Jagir belum mencukupi kebutuhan ekstraksi, sehingga ditambahkan simplisia dari Krian yang telah dipastikan berasal dari spesies yang sama berdasarkan hasil determinasi tanaman. Hasil skrining fitokimia ekstrak gabungan menunjukkan profil metabolit sekunder yang konsisten dengan hasil pengujian pada masing-masing sampel asal lokasi. Meskipun demikian, penggabungan simplisia sebelum proses ekstraksi menyebabkan karakteristik ekstrak dari masing-masing lokasi tidak dapat dievaluasi secara terpisah dalam pengujian lanjutan. Oleh karena itu, pada penelitian selanjutnya, proses ekstraksi sebaiknya dilakukan secara terpisah untuk setiap sumber simplisia agar karakteristik ekstrak dari masing-masing lokasi dapat dikaji secara lebih spesifik

Keberadaan senyawa-senyawa tersebut selanjutnya menjadi dasar dalam pengujian aktivitas ekstrak pada hewan coba untuk melihat pengaruhnya terhadap kadar Pb dalam darah. Setelah diperoleh ekstrak yang mengandung berbagai metabolit sekunder, pengujian dilanjutkan secara *in vivo* untuk mengetahui efektivitasnya terhadap penurunan kadar Pb dalam darah. Penelitian ini menggunakan tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan sebagai hewan uji karena banyak digunakan dalam penelitian biomedis dan toksikologi serta memiliki kemiripan biologis dengan manusia, sehingga dapat digunakan sebagai model untuk mempelajari efek paparan zat berbahaya seperti logam berat Pb [32]. Selain itu, pada penelitian ini menggunakan tikus Wistar jantan dikarenakan perubahan fisiologis yang terjadi selama siklus reproduksi pada tikus betina dianggap berpotensi memengaruhi hasil penelitian non-reproduksi [33]. Tikus Wistar diaklimatisasi selama 7 hari sebelum diberikan perlakuan sesuai kelompok. Masing masing perlakuan terdapat 4 ekor tikus dan 1 ekor tikus sebagai cadangan disetiap kelompoknya dengan berat 150-200 gram.

B. Pengukuran Kurva Standart

Analisis kadar Pb dalam darah tikus dilakukan menggunakan instrumen *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) Shimadzu AA-7000. Sebelum dilakukan penetapan kadar Pb pada sampel, kurva standart dibuat terlebih dahulu menggunakan larutan standar Pb dengan beberapa variasi konsentrasi. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar Pb pada berbagai konsentrasi digunakan untuk membuat kurva kalibrasi sebagai dasar penentuan kadar Pb dalam sampel [34]. Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk membuat kurva kalibrasi dengan memplot konsentrasi larutan standar terhadap absorbansi sehingga diperoleh persamaan garis regresi linear. Hubungan antara konsentrasi dan absorbansi dinyatakan dengan persamaan regresi linear yaitu $y = mx + c$ [35].



Gambar 1. Hasil Kurva Standart Pb

Berdasarkan Gambar 1 diperoleh persamaan regresi linier y = 0,0073x + 0,0056 dengan nilai R^2 = 0,998. Nilai tersebut menunjukkan adanya hubungan linier yang sangat kuat antara konsentrasi larutan standar Pb dan absorbansi, sehingga kurva kalibrasi dapat digunakan untuk penentuan kadar Pb dalam sampel. Hal ini sesuai dengan prinsip kerja *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS) yang didasarkan pada hukum Lambert-Beer, yaitu hubungan antara jumlah radiasi yang diserap oleh atom dengan konsentrasi analit dalam sampel. Menurut prinsip tersebut, intensitas cahaya yang diteruskan akan mengalami penurunan seiring meningkatnya jumlah spesies penyerap cahaya, sehingga peningkatan konsentrasi atom Pb akan menyebabkan peningkatan absorbansi yang terukur oleh instrumen [36]. Nilai R^2

Copyright © Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. This preprint is protected by copyright held by Universitas Muhammadiyah Sidoarjo and is distributed under the Creative Commons Attribution License (CC BY). Users may share, distribute, or reproduce the work as long as the original author(s) and copyright holder are credited, and the preprint server is cited per academic standards.
Authors retain the right to publish their work in academic journals where copyright remains with them. Any use, distribution, or reproduction that does not comply with these terms is not permitted..

sebesar 0,998 menunjukkan hubungan linier yang sangat kuat antara konsentrasi Pb dan absorbansi. Nilai koefisien determinasi yang mendekati 1 menunjukkan bahwa metode memiliki linearitas yang baik dan memenuhi syarat untuk digunakan dalam analisis [37].

C. Hasil Pengukuran Pb dalam darah menggunakan AAS

Tabel 4. Hasil pengukuran Pb dalam kadar darah

Kode Perlakuan	Rata-rata kadar Pb sebelum perlakuan Mean ± SD (mg/L)	Rata-rata Kadar Pb setelah perlakuan Mean ± SD (mg/L)	Selisih
K -	0,0511 ± 0,0012	0,0155 ± 0,0004	0,0356
K+	0,4604 ± 0,0131	0,4360 ± 0,0006	0,0244
K Na-CMC 0,5 %	0,4458 ± 0,0026	0,4281 ± 0,0009	0,0177
D1	0,4498 ± 0,0232	0,3056 ± 0,0641	0,1442
D2	0,4595 ± 0,0039	0,2374 ± 0,0128	0,2221
D3	0,4307 ± 0,0177	0,1083 ± 0,0014	0,3224

Berdasarkan tabel 4, kelompok kontrol negatif (K-) menunjukkan adanya penurunan kadar Pb darah setelah perlakuan. Hasil pengukuran kadar Pb sebelum perlakuan *(pre-test)* diperoleh sebesar 0,0511 ± 0,0012 ppm, sedangkan setelah perlakuan *(post-test)* mengalami penurunan menjadi 0,0155 ± 0,0004 ppm. Dengan demikian, selisih penurunan kadar Pb pada kelompok kontrol negatif (K−) adalah sebesar 0,0356 ppm. Kadar Pb yang ditemukan pada kelompok kontrol negatif (K−) diduga berasal dari paparan lingkungan selama masa pemeliharaan hewan uji. Meskipun ditempatkan pada wadah berbeda, seluruh kelompok masih berada dalam lingkungan laboratorium yang sama. Pb di lingkungan dapat berasosiasi dengan partikel debu yang kemudian berpotensi tersebar di sekitar area pemeliharaan dan masuk ke dalam tubuh hewan melalui inhalasi secara tidak langsung. Meskipun jalur inhalasi diketahui memberikan kontribusi yang relatif lebih kecil dibandingkan jalur paparan lainnya, keberadaan partikel debu yang mengandung Pb tetap memungkinkan terjadinya paparan tingkat rendah pada hewan uji [38].

Paparan Pb pada hewan uji dapat terjadi melalui berbagai jalur masuk ke dalam tubuh. Pada kelompok kontrol positif (K+), induksi Pb diberikan secara langsung melalui oral. Setelah masuk ke dalam tubuh, ion Pb^{2+} dapat diserap melalui saluran pencernaan dan selanjutnya memasuki sirkulasi darah. Di dalam darah, sebagian besar Pb akan berikatan dengan eritrosit, yaitu sekitar 95–99%, sedangkan sisanya berada dalam plasma darah. Pb dapat memasuki eritrosit melalui mekanisme penukar anion (*anion exchanger*) pada membran eritrosit yang memungkinkan ion Pb^{2+} berikatan dengan komponen intraseluler sel darah merah. Interaksi tersebut dapat menyebabkan gangguan pada proses biosintesis heme melalui penghambatan aktivitas enzim aminolevulinat dehidratase (ALAD). Gangguan sintesis heme selanjutnya berpengaruh terhadap pembentukan hemoglobin yang berperan dalam proses pengangkutan oksigen oleh eritrosit [39]. Hasil pengukuran kadar Pb darah pada kelompok kontrol positif (K+) sebelum perlakuan (*pre-test*) diperoleh sebesar 0,4604 ± 0,0131 ppm, sedangkan setelah perlakuan *(post-test)* kadar Pb darah menjadi 0,4360 ± 0,0006 ppm dan diperoleh selisih penurunan kadar Pb sebesar 0,0244 ppm. Hal ini membuktikan bahwa bahwa induksi Pb berhasil meningkatkan kadar Pb dalam darah. Penurunan kadar Pb pada kelompok K+ diduga terjadi akibat mekanisme fisiologis tubuh setelah paparan dihentikan, yaitu melalui proses distribusi Pb dari sirkulasi darah menuju jaringan penyimpanan seperti hati, ginjal, dan tulang, serta proses eliminasi melalui saluran gastrointestinal dan feses [40]. Proses tersebut menyebabkan sebagian Pb tidak lagi berada dalam sirkulasi darah sehingga kadar Pb yang terukur mengalami penurunan.

Setelah mengetahui perubahan kadar Pb pada kelompok kontrol positif (K+), kelompok kontrol Na-CMC digunakan sebagai kelompok pembanding untuk mengevaluasi perubahan kadar Pb akibat induksi Pb tanpa adanya pemberian ekstrak daun jarak kepyar. Hasil pengukuran kadar Pb darah pada kelompok kontrol Na-CMC sebelum perlakuan *(pre-test)* diperoleh sebesar 0,4458 ± 0,0026 ppm, sedangkan setelah perlakuan *(post-test*) mengalami penurunan menjadi 0,4281 ± 0,0009 ppm dan diperoleh selisih penurunan kadar Pb sebesar 0,0177 ppm. Pada kelompok Na-CMC 0,5% menunjukkan penurunan kadar pb meskipun tidak secara drastis. Penurunan kadar Pb yang terjadi pada kelompok Na-CMC 0,5% diduga berkaitan dengan mekanisme fisiologis tubuh dalam mendistribusikan dan mengeliminasi Pb setelah paparan dihentikan, sehingga sebagian Pb tidak lagi berada dalam sirkulasi darah. Namun, penurunan tersebut relatif kecil karena kelompok ini tidak memperoleh pemberian senyawa aktif yang berpotensi meningkatkan proses pengurangan kadar Pb dalam tubuh. Hal tersebut sesuai dengan fungsi Na-CMC sebagai bahan pelarut yang digunakan untuk menghasilkan suspensi ekstrak yang homogen dan mempermudah pemberian secara oral. Na-CMC 0,5% digunakan sebagai pelarut karena telah dilaporkan aman dan tidak memengaruhi

Copyright © Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. This preprint is protected by copyright held by Universitas Muhammadiyah Sidoarjo and is distributed under the Creative Commons Attribution License (CC BY). Users may share, distribute, or reproduce the work as long as the original author(s) and copyright holder are credited, and the preprint server is cited per academic standards.
Authors retain the right to publish their work in academic journals where copyright remains with them. Any use, distribution, or reproduction that does not comply with these terms is not permitted..

respons farmakologis maupun toksikologis hewan uji, sehingga kecil kemungkinan menimbulkan efek perancu terhadap hasil penelitian [41].

Kelompok perlakuan Ekstrak Daun Jarak Kepyar (D1, D2, dan D3), seluruh kelompok menunjukkan adanya penurunan kadar Pb darah setelah pemberian ekstrak dengan besar penurunan yang berbeda pada masing-masing dosis. Kelompok D1 dengan dosis ekstrak *Ricinus communis L.*250 mg/kgBB menunjukkan penurunan kadar Pb darah dari 0,4498 ± 0,0232 ppm sebelum perlakuan menjadi 0,3056 ± 0,0641 ppm setelah perlakuan, dengan selisih penurunan sebesar 0,1442 ppm. Selanjutnya, kelompok D2 dengan dosis 500 mg/kgBB mengalami penurunan kadar Pb darah dari 0,4595 ± 0,0039 ppm menjadi 0,2374 ± 0,0128 ppm, dengan selisih penurunan sebesar 0,2221 ppm. Sementara itu, kelompok D3 dengan dosis 750 mg/kgBB menunjukkan penurunan kadar Pb terbesar, yaitu dari 0,4307 ± 0,0177 ppm menjadi 0,1083 ± 0,0014 ppm dengan selisih penurunan sebesar 0,3224 ppm.

Sebagai acuan kadar Pb dalam darah, Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1406/MENKES/IX/2002 menetapkan rentang kadar Pb dalam spesimen darah orang dewasa sebesar 0,1–0,25 ppm [42]. Nilai tersebut ditetapkan berdasarkan standar pada manusia sehingga tidak dapat dijadikan acuan secara langsung untuk menentukan kadar Pb normal pada tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). Ketersediaan referensi yang secara spesifik menetapkan kadar Pb darah normal maupun batas toksisitas pada tikus juga masih terbatas. Dengan demikian, interpretasi kadar Pb darah pada penelitian ini perlu disesuaikan dengan karakteristik spesies, tingkat paparan, serta kondisi perlakuan yang diberikan selama penelitian.

Perbedaan besar penurunan kadar Pb pada masing-masing kelompok perlakuan berkaitan dengan variasi dosis ekstrak yang diberikan. Pemberian ekstrak daun *Ricinus communis* L. pada dosis 250 dan 500 mg/kgBB dilaporkan mampu memberikan efek hepatoprotektif melalui penurunan kadar enzim penanda kerusakan hati, yaitu alanine aminotransferase (ALT) dan aspartate aminotransferase (AST), pada tikus yang mengalami kerusakan hati akibat induksi Pb [43]. Selain itu, penentuan rentang dosis juga mempertimbangkan penelitian mengenai efek nefroprotektif ekstrak daun Jatropha curcas terhadap toksisitas Pb. Tanaman *Jatropha curcas* diketahui masih berada dalam satu famili dengan *Ricinus communis* L., yaitu Euphorbiaceae, dan dosis tertinggi yang diuji (200 mg/kgBB) dilaporkan memberikan efek nefroprotektif terbaik pada tikus yang diinduksi Pb [17]. Penggunaan dosis 250, 500, dan 750 mg/kgBB dalam penelitian ini untuk mengamati kemungkinan adanya hubungan dosis-respons ekstrak terhadap perubahan kadar Pb darah.

Kecenderungan peningkatan penurunan kadar Pb seiring dengan peningkatan dosis ekstrak diduga berkaitan dengan meningkatnya jumlah senyawa bioaktif yang diberikan pada masing-masing kelompok perlakuan. Bedasarkan uji hasil fitokimia, Ekstrak daun *Ricinus communis* L. diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder, seperti flavonoid, senyawa fenolik, tanin, saponin, dan steroid yang memiliki aktivitas biologis berbeda. Keberadaan senyawa metabolit sekunder tersebut diduga berkontribusi terhadap respons protektif ekstrak terhadap paparan logam berat melalui interaksi kimia maupun aktivitas biologisnya.

Interaksi antara Pb^{2+} dengan senyawa bioaktif dalam ekstrak tanaman dapat terjadi melalui mekanisme pengikatan logam oleh gugus fungsi aktif yang terdapat pada senyawa organik. Senyawa polifenol, seperti flavonoid, fenolik, dan tanin, memiliki gugus hidroksil (-OH) serta gugus fungsi lain yang mampu berperan sebagai donor elektron untuk berinteraksi dengan ion logam melalui pembentukan kompleks koordinasi. Interaksi tersebut menyebabkan ion logam dapat terikat pada struktur senyawa bioaktif melalui mekanisme kompleksasi atau kelasi, sehingga berpotensi mengurangi keberadaan ion logam bebas dalam sistem biologis [44].

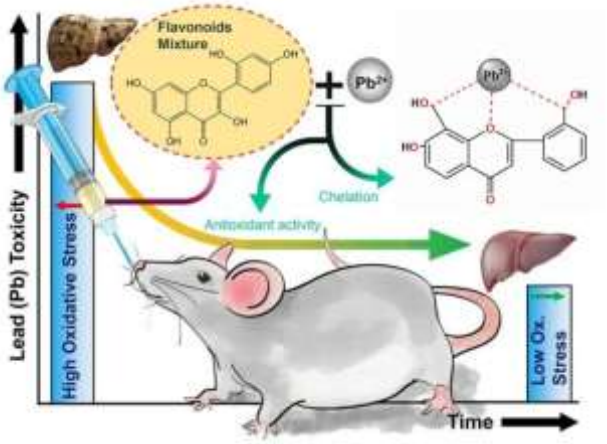
Mekanisme interaksi antara senyawa bioaktif dalam ekstrak daun *Ricinus communis* L. dengan ion Pb^{2+} dapat dijelaskan berdasarkan karakteristik gugus fungsi dan aktivitas biologis dari masing-masing metabolit sekunder yang terkandung. Setiap golongan senyawa memiliki struktur kimia dan mekanisme kerja yang berbeda dalam memberikan respons terhadap paparan logam berat. Flavonoid adalah senyawa alami yang memiliki tiga struktur molekul salah satunya adalah gugus catechol (-OH) berdekatan yang bisa mendonorkan elektron dan berikatan dengan ion logam Pb^{2+} terutama struktur catechol berupa dua gugus hidroksil yang berdekatan pada cincin B flavonoid, memungkinkan terjadinya interaksi dengan ion logam berat melalui mekanisme kompleksasi atau kelasi [45].

Selain melalui mekanisme pengkelatan ion logam, senyawa bioaktif dalam ekstrak daun jarak kepyar (*Ricinus communis* L.) diduga berpotensi memberikan efek protektif melalui aktivitas antioksidan. Paparan Pb dapat meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) dan mengganggu keseimbangan sistem pertahanan antioksidan, sehingga memicu stres oksidatif dan kerusakan komponen seluler. Penelitian melaporkan dalam tinjauan sistematis terhadap penelitian praklinis pada hewan bahwa paparan Pb berkaitan dengan peningkatan ROS dan gangguan aktivitas enzim antioksidan, sedangkan pemberian berbagai ekstrak tumbuhan berpotensi memperbaiki keseimbangan redoks melalui mekanisme

Copyright © Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. This preprint is protected by copyright held by Universitas Muhammadiyah Sidoarjo and is distributed under the Creative Commons Attribution License (CC BY). Users may share, distribute, or reproduce the work as long as the original author(s) and copyright holder are credited, and the preprint server is cited per academic standards.
Authors retain the right to publish their work in academic journals where copyright remains with them. Any use, distribution, or reproduction that does not comply with these terms is not permitted..

pengkelatan logam dan penguatan pertahanan antioksidan [46]. Senyawa polifenol, termasuk flavonoid, diketahui dapat berperan sebagai antioksidan melalui donasi elektron atau atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas, sehingga berpotensi menghambat reaksi berantai yang menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan oksidatif lainnya [47]. Berdasarkan mekanisme tersebut, senyawa bioaktif dalam ekstrak daun *Ricinus communis* L. diduga dapat berkontribusi terhadap efek protektif pada tikus yang terpapar Pb. Meskipun demikian, keterlibatan aktivitas antioksidan dalam penelitian ini masih merupakan dugaan mekanistik karena parameter ROS dan stres oksidatif tidak diukur secara langsung.

Secara mekanistik, ion Pb^{2+} yang berada dalam sirkulasi darah dapat berinteraksi dengan gugus hidroksil(-OH) yang terdapat pada senyawa flavonoid. Gugus hidroksil tersebut memiliki atom oksigen dengan pasangan elektron bebas yang dapat berinteraksi dengan ion Pb^{2+}, sehingga terbentuk ikatan koordinasi antara flavonoid dan logam melalui mekanisme kelasi [48].Mekanisme tersebut ditujukan pada



Gambar 2. Interaksi Senyawa Flavonoid didalam Jarak Kepyar dengan Pb [49]

Selain gugus hidroksil, senyawa polifenol juga memiliki gugus fungsi lain, seperti karbonil (C=O) dan eter (C–O–C), yang dapat berperan sebagai donor elektron dalam pengikatan ion Pb^{2+}. Berdasarkan hasil analisis secara deskriptif, pemberian ekstrak daun jarak kepyar (*Ricinus communis* L.) menunjukkan adanya penurunan kadar Pb darah pada kelompok perlakuan setelah pemberian ekstrak. Namun, perubahan yang terlihat secara deskriptif belum dapat digunakan untuk menentukan adanya pengaruh kadar Pb secara statistik, sehingga diperlukan analisis lebih lanjut secara analitik. Sebelum dilakukan analisis lebih lanjut, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas *Shapiro–Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene's Test* untuk menentukan jenis uji statistik yang sesuai. Hasil uji normalitas *Shapiro–Wilk* menunjukkan bahwa data pada kelompok kontrol positif (p=0,066), dosis 250 mg/kgBB (p=0,563), dan dosis 750 mg/kgBB (p=0,091) terdistribusi normal (p>0,05), sedangkan kelompok kontrol negatif (p=0,002), Na-CMC 0,5% (p=0,017), dan dosis 500 mg/kgBB (p=0,004) tidak terdistribusi normal (p<0,05). Hasil tersebut menunjukkan bahwa asumsi normalitas tidak terpenuhi secara keseluruhan. Selanjutnya, hasil uji homogenitas menggunakan *Levene's Test* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 (p<0,05), sehingga data dinyatakan tidak homogen. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas tersebut, analisis dilanjutkan menggunakan uji statistik nonparametrik *Wilcoxon* untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh kadar Pb darah sebelum dan sesudah pemberian perlakuan.

Hasil uji *Wilcoxon* menunjukkan bahwa seluruh kelompok penelitian mengalami penurunan kadar Pb darah setelah perlakuan secara deskriptif. Namun, perubahan tersebut belum menunjukkan pengaruh yang bermakna secara statistik. Pada kelompok kontrol positif (K+), kontrol negatif (K−), Na-CMC 0,5%, D1 (250 mg/kgBB), D2 (500 mg/kgBB), dan D3 (750 mg/kgBB), diperoleh nilai p=0,068 (p>0,05) dengan nilai Z=-1,826. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh kadar Pb darah yang bermakna secara statistik antara sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok.

Hasil tersebut dapat dipengaruhi oleh jumlah sampel yang terbatas pada setiap kelompok serta adanya variasi perubahan kadar Pb antar tikus. Meskipun secara deskriptif terjadi penurunan kadar Pb darah, perubahan yang bervariasi antarindividu menyebabkan penurunan tersebut belum cukup konsisten untuk menunjukkan pengaruh yang bermakna secara statistik [50]. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak memberikan kecenderungan penurunan kadar Pb yang lebih besar secara biologis, tetapi belum cukup kuat untuk membuktikan adanya hubungan dosis–respons yang signifikan

Copyright © Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. This preprint is protected by copyright held by Universitas Muhammadiyah Sidoarjo and is distributed under the Creative Commons Attribution License (CC BY). Users may share, distribute, or reproduce the work as long as the original author(s) and copyright holder are credited, and the preprint server is cited per academic standards.
Authors retain the right to publish their work in academic journals where copyright remains with them. Any use, distribution, or reproduction that does not comply with these terms is not permitted..

secara statistik. Penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar dan durasi perlakuan yang lebih panjang diperlukan untuk mengonfirmasi efektivitas ekstrak daun *Ricinus communis* L. sebagai agen protektif terhadap toksisitas Pb.

IV. Simpulan

Pemberian ekstrak daun jarak kepyar (*Ricinus communis* L.) menunjukkan potensi dalam menurunkan kadar logam berat timbal (Pb) pada tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) secara *in vivo*. Peningkatan dosis ekstrak menunjukkan kecenderungan peningkatan efek penurunan kadar Pb, dengan kelompok D3 (750 mg/kgBB) menghasilkan penurunan kadar Pb terbesar, yaitu dari 0,4307 ± 0,0177 mg/L menjadi 0,1083 ± 0,0014 mg/L. Namun, perubahan kadar Pb antar waktu pengamatan belum menunjukkan pengaruh yang signifikan secara statistik berdasarkan uji *Wilcoxon* (p=0,068). Penelitian selanjutnya dapat mempertimbangkan standardisasi bahan tanaman berdasarkan lokasi asal daun yang digunakan dalam pembuatan ekstrak, sehingga karakteristik bahan dan kandungan metabolit sekundernya dapat lebih terkontrol, serta dapat dilakukan dengan jumlah sampel yang lebih besar dan durasi perlakuan yang lebih panjang untuk memperoleh hasil yang lebih kuat.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Program Studi Teknologi Laboratorium Kimia dan Laboratorium Hewan Uji Coba, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Psikologi UMSIDA, serta Laboratorium Riset Kimia dan Kimia Organik, FMIPA UNESA, atas segala dukungan dan fasilitas yang diberikan selama pelaksanaan penelitian. Penulis berterima kasih juga kepada semua pihak yang terlibat dan telah membantu penelitian ini.

Referensi

[1] I. H. Henni, “Heavy metals in the environment: Detection techniques and toxicity,” *J. Toxicol. Stud.*, vol. 3, no. 1, hlm. 2772–2772, Apr 2025, doi: 10.59400/jts2772.

[2] C. O. Handayani, Sukaharjo, H. Zu’amah, dan T. Dewi, “Karakteristik Distribusi, Analisis Sumber dan Penilaian Risiko Kesehatan dari Logam Berat di Lahan Pertanian Kota Batu, Jawa Timur: Distribution Characteristics, Sources Analysis, and Health Risks Assessment of Heavy Metals in Farmland Soil in Batu City, East Java,” *J. Teknol. Lingkung.*, vol. 24, no. 2, hlm. 166–175, Jul 2023, doi: 10.55981/jtl.2023.291.

[3] S. Das, K. W. Sultana, A. R. Ndhlala, M. Mondal, dan I. Chandra, “Heavy Metal Pollution in the Environment and Its Impact on Health: Exploring Green Technology for Remediation,” *Environ. Health Insights*, vol. 17, hlm. 11786302231201259, Jan 2023, doi: 10.1177/11786302231201259.

[4] A. H. Hutuba, M. A. Maku, M. Taupik, M. A. Mustapa, dan A. M. A. Suryadi, “Analisis Cemaran Logam Berat Merkuri (Hg), Timbal (Pb), dan Tembaga (Cu) pada Sungai Provinsi Gorontalo,” *J. Syifa Sci. Clin. Res.*, vol. 7, no. 1, Feb 2025, doi: 10.37311/jsscr.v7i1.29865.

[5] K. Dominika, I. K. Berata, dan N. L. E. Setiasih, “Histopathology of Rat Kidney Exposed to Lead Heavy Metal,” *Bul. Vet. Udayana*, hlm. 45, Mei 2022, doi: 10.24843/bulvet.2023.v01.i01.p06.

[6] G. Pratama, K. Andika, dan H. Pardi, “Kajian Kandungan Logam Berat Merkuri (Hg) dan Timbal (Pb) Pada Beberapa Jenis Kerang di Perairan Pesisir Indonesia,” *J. Res. Educ. Chem.*, vol. 6, no. 2, hlm. 83–83, Okt 2024, doi: 10.25299/jrec.2024.vol6(2).17169.

[7] S. F. Ananda, S. Redjeki, dan I. Widowati, “Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) Pada Air, Sedimen, dan Jaringan Lunak Kerang Bambu (Solen sp.) Di Perairan Rembang Jawa Tengah Dan Gresik Jawa Timur,” *J. Mar. Res.*, vol. 11, no. 2, hlm. 176–182, Mei 2022.

[8] A. K. Saputra, “Studi kandungan logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) pada kerang darah (Anadara granosa) di perairan tambak di Kecamatan Sedati, Kabupaten Sidoarjo,” undergraduate, UIN Sunan Ampel Surabaya, 2022. Diakses: 23 Juni 2026. [Daring]. Tersedia pada: http://digilib.uinsa.ac.id/63397/

[9] H. Ali, E. Khan, dan I. Ilahi, “Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation,” *J. Chem.*, vol. 2019, no. 1, hlm. 6730305, 2019, doi: 10.1155/2019/6730305.

[10] M. A. Assi, M. N. M. Hezmee, A. W. Haron, M. Y. M. Sabri, dan M. A. Rajion, “The detrimental effects of lead on human and animal health,” *Vet. World*, vol. 9, no. 6, hlm. 660–671, Jun 2016, doi: 10.14202/vetworld.2016.660-671.

[11] M. Balali-Mood *dkk.*, “Recent advances in the clinical management of intoxication by five heavy metals: Mercury, lead, chromium, cadmium and arsenic,” *Heliyon*, vol. 11, no. 4, hlm. e42696, Feb

Copyright © Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. This preprint is protected by copyright held by Universitas Muhammadiyah Sidoarjo and is distributed under the Creative Commons Attribution License (CC BY). Users may share, distribute, or reproduce the work as long as the original author(s) and copyright holder are credited, and the preprint server is cited per academic standards.
Authors retain the right to publish their work in academic journals where copyright remains with them. Any use, distribution, or reproduction that does not comply with these terms is not permitted..

2025, doi: 10.1016/j.heliyon.2025.e42696.
[12] P. O. Oladoye, "Natural, low-cost adsorbents for toxic Pb(II) ion sequestration from (waste)water: A state-of-the-art review," *Chemosphere*, vol. 287, hlm. 132130, Jan 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.132130.
[13] J. Bayuo, M. Rwiza, dan K. Mtei, "A comprehensive review on the decontamination of lead(ii) from water and wastewater by low-cost biosorbents," *RSC Adv.*, vol. 12, no. 18, hlm. 11233–11254, Apr 2022, doi: 10.1039/d2ra00796g.
[14] M. Alehegn *dkk.*, "Valorization of castor seed shell waste as lead adsorbent by treatment with hot phosphoric acid: Optimization and evaluation of adsorption properties," *Chemosphere*, vol. 362, hlm. 142655, Agu 2024, doi: 10.1016/j.chemosphere.2024.142655.
[15] M. Abbas *dkk.*, "Mutagenicity, cytotoxic and antioxidant activities of Ricinus communis different parts," *Chem. Cent. J.*, vol. 12, no. 1, hlm. 3, Jan 2018, doi: 10.1186/s13065-018-0370-0.
[16] Y. M. Muflihah, G. Gollavelli, dan Y.-C. Ling, "Correlation Study of Antioxidant Activity with Phenolic and Flavonoid Compounds in 12 Indonesian Indigenous Herbs," *Antioxidants*, vol. 10, no. 10, hlm. 1530, Sep 2021, doi: 10.3390/antiox10101530.
[17] Okonkwo *dkk.*, "Nephroprotective Effects of Aqueous Extracts of Hibiscus sabdariffa Calyces and Jatropha curcas Leaves against Lead Toxicity," *Int. J. Biochem. Biophys. Publ.*, vol. 8, no. 1, hlm. 9–16, Jun 2020, doi: 10.13189/ijbb.2020.080102.
[18] A. W. Ningsih *dkk.*, "Tinjauan Literatur: Efektivitas Maserasi sebagai Metode Ekstraksi Fitokimia," *OBAT J. Ris. Ilmu Farm. Dan Kesehat.*, vol. 3, no. 6, hlm. 228–242, Nov 2025, doi: 10.61132/obat.v3i6.1927.
[19] A. M. Mohammed, "Analytical Procedure for Determination of Lead in Blood and Urine by Atomic Absorption Spectrometry," *Eur. J. Biomed. Res.*, vol. 1, no. 5, hlm. 13–15, Des 2022, doi: 10.24018/ejbiomed.2022.1.5.33.
[20] T. Handayani, Y. Yusuf, dan J. Tandi, "Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Biji Kelor (Moringa oleifera Lam.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis: Qualitative and Quantitative Analysis of Secondary Metabolite of Moringa Seed Extract (Moringa oleifera Lam.) with UV-Vis Spectrophotometry Method," *KOVALEN J. Ris. Kim.*, vol. 6, hlm. 230–238, Des 2020, doi: 10.22487/kovalen.2020.v6.i3.15324.
[21] Tim Kimia Organik, 2026. Buku Petunjuk Praktikum Kimia Organik. Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Surabaya
[22] Y. Windusari, I. N. Aini, A. Setiawan, dan E. N. Aetin, "Deteksi Frekuensi Distribusi Timbal Dalam Darah Pekerja Pengisi Bahan Bakar: Studi Kasus SPBU di Plaju, Sumatera Selatan.," *J. Kesehat. Lingkung. Indones.*, vol. 18, no. 1, hlm. 62–66, Apr 2019.
[23] D. D. Soejarto, E. M. Addo, dan A. D. Kinghorn, "The continuing need for taxonomic input in phytochemical research," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 354, hlm. 120474, Jan 2026, doi: 10.1016/j.jep.2025.120474.
[24] A. K. Permadi, E. A. Pratama, A. L. L. Hakim, A. K. Widi, dan D. Abdassah, "The Effect of Carbonyl and Hydroxyl Compounds Addition on CO2 Injection through Hydrocarbon Extraction Processes," *Appl. Sci.*, vol. 11, no. 1, hlm. 159, Jan 2021, doi: 10.3390/app11010159.
[25] M. A. Ramadhani, A. K. Hati, N. F. Lukitasari, dan A. H. Jusman, "Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (Tithonia diversifolia) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96 %," *Indones. J. Pharm. Nat. Prod.*, vol. 3, no. 1, Apr 2020, doi: 10.35473/ijpnp.v3i1.481.
[26] J. Azmir *dkk.*, "Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review," *J. Food Eng.*, vol. 117, no. 4, hlm. 426–436, Agu 2013, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014.
[27] A. A. Singh, G. Rajeswari, L. A. Nirmal, dan S. Jacob, "Synthesis and extraction routes of allelochemicals from plants and microbes: A review," *Rev. Anal. Chem.*, vol. 40, no. 1, hlm. 293–311, Jan 2021, doi: 10.1515/revac-2021-0139.
[28] M. A. Ramadhani, A. K. Hati, N. F. Lukitasari, dan A. H. Jusman, "Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (Tithonia diversifolia) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96 %," *Indones. J. Pharm. Nat. Prod.*, vol. 3, no. 1, Apr 2020, doi: 10.35473/ijpnp.v3i1.481.
[29] S. F. Karim, N. Farid, H. Wahid, dan M. Musdalifa, "Uji Efektivitas Anthelmintik Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum americanum L.) Terhadap Cacing Gelang (Ascaris lumbricoides) Secara In Vitro," *JPSCR J. Pharm. Sci. Clin. Res.*, vol. 6, no. 3, hlm. 254–263, Nov 2021, doi: 10.20961/jpscr.v6i3.48686.
[30] N. Djaya, H. Kuncoro, D. Tjen, J. Suprana, dan F. Prasetya, "Aplikasi Farmakologis dan Formulasi Jamu sebagai Bahan Aktif dalam Produk Nutrasetikal dan Makanan Fungsional: Tinjauan

Copyright © Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. This preprint is protected by copyright held by Universitas Muhammadiyah Sidoarjo and is distributed under the Creative Commons Attribution License (CC BY). Users may share, distribute, or reproduce the work as long as the original author(s) and copyright holder are credited, and the preprint server is cited per academic standards.
Authors retain the right to publish their work in academic journals where copyright remains with them. Any use, distribution, or reproduction that does not comply with these terms is not permitted..

Komprehensif: Pharmacological Applications and Jamu Formulations as Active Ingredients in Nutraceutical and Functional Food Products: A Comprehensive Review," *J. Sains Dan Kesehat.*, vol. 6, no. 2, hlm. 101–115, Jul 2025, doi: 10.30872/jsk.v6i2.840.

[31] S. K. Sani, B. Erna, and A. S. Ulandari, "Identifikasi senyawa aktif ekstrak daun jarak kepyar (Ricinus communis) dengan analisis fitokimia dan GC-MS sebagai kandidat senyawa obat," Pharma Xplore: Jurnal Sains dan Ilmu Farmasi, vol. 8, no. 1, pp. 13–23, May 2023, doi: 10.36805/jpx.v8i1.5115. [32] D. Wati, Wati, S. Ilyas, dan Y. Midoen, *Prinsip Dasar Tikus sebagai Model Penelitian*. 2024.

[33] I. Zucker, "The mixed legacy of the rat estrous cycle," *Biol. Sex Differ.*, vol. 14, hlm. 55, Sep 2023, doi: 10.1186/s13293-023-00542-7.

[34] N. Nilawati, R. Rahmawati, and A. Arwin, "Penetapan kadar timbal (Pb) dalam darah pekerja bengkel resmi di Kota Makassar," J. Med., vol. 3, no. 1, pp. 7–12, Jun. 2018, doi: 10.53861/jmed.v3i1.144.

[35] V. Putri dan S. Aini, "Penentuan Kadar Besi (Fe), Mangan (Mn), dan Timbal (Pb) dalam Sampel Air Minum Menggunakan Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS)," *MASALIQ*, vol. 5, hlm. 2645–2656, Okt 2025, doi: 10.58578/masaliq.v5i6.7561.

[36] E. P. Maharani, H. Briliana, E. H. Putri, F. S. Faraditta, dan A. R. Az-zhaffirah, "A Comprehensive Review on Atomic Absorption Spectroscopy: Principles, Techniques, and Applications," *J. Ilm. Wahana Pendidik.*, vol. 10, no. 15, hlm. 20–29, Agu 2024, doi: 10.5281/zenodo.13764070.

[37] R. Sejati, G. Hanum, dan I. Pramushinta, "Test of Lead (Pb) and Zinc (Zn) on Tiger Shrimp (Penaeus monodon) at Kalanganyar Market, Sidoarjo with Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS)," *Medicra J. Med. Lab. Sci.*, vol. 5, hlm. 56–61, Jul 2022, doi: 10.21070/medicra.v5i1.1624.

[38] M. M. Simatupang, E. Veronika, A. Irfandi, dan V. Azteria, "Potential Impacts of Lead on Health: A Review of Environmental Exposure, Population at Risk, and Toxic Effects," *J. Kesehat. Lingkung.*, vol. 16, no. 3, hlm. 277–288, Jul 2024, doi: 10.20473/jkl.v16i3.2024.277-288.

[39] K. Jomova, S. Y. Alomar, E. Nepovimova, K. Kuca, dan M. Valko, "Heavy metals: toxicity and human health effects," *Arch. Toxicol.*, vol. 99, no. 1, hlm. 153–209, Jan 2025, doi: 10.1007/s00204-024-03903-2.

[40] A. L. Wani, A. Ara, dan J. A. Usmani, "Lead toxicity: a review," *Interdiscip. Toxicol.*, vol. 8, no. 2, hlm. 55–64, Jun 2015, doi: 10.1515/intox-2015-0009.

[41] M. Matias, S. Silvestre, A. Falcão, dan G. Alves, "Considerations and Pitfalls in Selecting the Drug Vehicles for Evaluation of New Drug Candidates: Focus on in vivo Pharmaco-Toxicological Assays Based on the Rotarod Performance Test," *J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 21, hlm. 110, Mar 2018, doi: 10.18433/jpps29656.

[42] N. Sudarma, "Hubungan kadar timbal (Pb) dalam darah dengan kadar hemoglobin serta jumlah eritrosit pada pekerja di Terminal Ubung Denpasar 2019," Seminar Ilmiah Nasional Teknologi Sains dan Sosial Humaniora (SINTESA), vol. 3, 2020, doi: 10.36002/snts.v0i0.1260. [43] N. A, S. J, P. John, dan V. N, "Evaluation of hepatoprotective activity of aqueous extract of ricinus communis in Wistar rats," *Int. J. Basic Clin. Pharmacol.*, vol. 5, no. 2, hlm. 358–361, Des 2016, doi: 10.18203/2319-2003.ijbcp20160744.

[44] M. E. Sears, "Chelation: Harnessing and Enhancing Heavy Metal Detoxification—A Review," *Sci. World J.*, vol. 2013, hlm. 219840, Apr 2013, doi: 10.1155/2013/219840.

[45] Q. Wang, H. Zhao, M. Zhu, L. Gao, N. Cheng, dan W. Cao, "Spectroscopy characterization, theoretical study and antioxidant activities of the flavonoids-Pb(II) complexes," *J. Mol. Struct.*, vol. 1209, hlm. 127919, Jun 2020, doi: 10.1016/j.molstruc.2020.127919.

[46] A. L. F. Destro, P. da Silva Mattosinhos, R. D. Novaes, M. M. Sarandy, R. V. Gonçalves, dan M. B. Freitas, "Impact of plant extracts on hepatic redox metabolism upon lead exposure: a systematic review of preclinical in vivo evidence," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 30, no. 40, hlm. 91563–91590, Agu 2023, doi: 10.1007/s11356-023-28620-8.

[47] C. Niu, M. Dong, dan Y. Niu, "Lead toxicity and potential therapeutic effect of plant-derived polyphenols," *Phytomedicine*, vol. 114, hlm. 154789, Jun 2023, doi: 10.1016/j.phymed.2023.154789.

[48] P. K. Walencik, R. Choińska, E. Gołębiewska, and M. Kalinowska, "Metal–Flavonoid Interactions—From Simple Complexes to Advanced Systems," Molecules, vol. 29, no. 11, p. 2573, 2024, doi: 10.3390/molecules29112573.

[49] A. Adhikari *dkk.*, "Spectroscopic Studies on Dual Role of Natural Flavonoids in Detoxification of Lead Poisoning: Bench-to-Bedside Preclinical Trial," *ACS Omega*, vol. 3, no. 11, hlm. 15975–15987, Nov 2018, doi: 10.1021/acsomega.8b02046.

Copyright © Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. This preprint is protected by copyright held by Universitas Muhammadiyah Sidoarjo and is distributed under the Creative Commons Attribution License (CC BY). Users may share, distribute, or reproduce the work as long as the original author(s) and copyright holder are credited, and the preprint server is cited per academic standards.
Authors retain the right to publish their work in academic journals where copyright remains with them. Any use, distribution, or reproduction that does not comply with these terms is not permitted..

[50] M. J. Ko dan C.-Y. Lim, "General considerations for sample size estimation in animal study," *Korean J. Anesthesiol.*, vol. 74, no. 1, hlm. 23–29, Feb 2021, doi: 10.4097/kja.20662.

Conflict of Interest Statement:
The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. This preprint is protected by copyright held by Universitas Muhammadiyah Sidoarjo and is distributed under the Creative Commons Attribution License (CC BY). Users may share, distribute, or reproduce the work as long as the original author(s) and copyright holder are credited, and the preprint server is cited per academic standards.
Authors retain the right to publish their work in academic journals where copyright remains with them. Any use, distribution, or reproduction that does not comply with these terms is not permitted..