Jurnal umsida

aprilia aisyah

HANIN 3

Kampus 1

Perpustakaan

Document Details

Submission ID

trn:oid:::1:3694352168

Submission Date

Oct 29, 2026, 9:13 AM GMT+7

Download Date

Oct 29, 2026, 9:21 AM GMT+7

File Name

SKRIPSI_APRILIA_AISYAH_PUTRI.pdf

File Size

387.9 KB

6 Pages

4,517 Words

27,918 Characters

3% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

Filtered from the Report

- Bibliography
- Quoted Text

Top Sources

3% Internet sources
2% Publications
0% Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

Top Sources

3% Internet sources
2% Publications
0% Submitted works (Student Papers)

Top Sources

The sources with the highest number of matches within the submission. Overlapping sources will not be displayed.

1 Internet

archive.umsida.ac.id **3%**

Effectiveness of Bay Leaf Extract (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) on Reducing Lead (Pb) Levels in Vivo in Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) Efektivitas Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) terhadap Penurunan Kadar Logam Berat Timbal (Pb) pada Tikus Wistar *(Rattus norvegicus)* secara *In Vivo*

Aprilia Aisyah Putri[1)], Galuh Ratmana Hanum [*,1)]

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

Abstract. *Lead (Pb) is a heavy metal that causes toxins that can accumulate in the body, potentially causing various health problems. Bay leaves (Syzygium polyanthum (Wight) Walp.) were obtained from Krikilan Village, Driyorejo District, Gresik Regency. Bay leaves (Syzygium polyanthum (Wight) Walp.) contain active compounds such as flavonoids, tannins, alkaloids, saponins, steroids, triterpenoids, and phenolics that can function as antioxidants and have the ability to bind heavy metals. The purpose of this study was to determine the effectiveness through the influence of the extract and the best dose that is effective in reducing the levels of heavy metal lead (Pb) in the blood of Wistar rats (Rattus norvegicus) that have been induced by lead acetate at a dose of 700 mg/KgBW. The design used in this study was an in vivo laboratory experiment with a pre-test post-test control group design. A total of 24 male Wistar rats were divided into six groups, namely negative control, positive control, Na-CMC control, and groups P1, P2, and P3. Measurement of lead (Pb) levels in the blood was carried out using an Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) (Shimadzu AA-7000). Data were analyzed using IBM SPSS Statistics version 25.0 Wilcoxon test. The results of the Wilcoxon test showed a p value = 0.068 (<0.05), this value is greater than 0.05, so there is no significant effect between Pb levels before and after treatment in each group. The results showed that the administration of bay leaf extract descriptively reduced Pb levels, but was not statistically significant, and increasing the dose did not show significant results.*

Keywords – *Bay leaf* (*Syzygium polyanthum (Wight) Walp.); Lead (Pb); Rattus norvegicus; Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS)*

Abstrak. Timbal (Pb) adalah logam berat yang menimbulkan racun yang dapat terakumulasi ke dalam tubuh, berpotensi menimbulkan berbagai masalah kesehatan. Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) *diperoleh Desa Krikilan, Kec Driyorejo, Kab Gresik. Daun salam* (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) *memiliki kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, dan fenolik yang dapat berfungsi sebagai antioksidan serta memiliki kemampuan mengikat logam berat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas melalui pengaruh ekstrak dan dosis terbaik yang efektif dalam menurunkan kadar logam berat timbal (Pb) pada darah tikus Wistar (Rattus norvegicus) yang telah di induksi timbal asetat dosis 700 mg/KgBB. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratorium secara in vivo dengan desain pre-test post-test control group. Sebanyak 24 ekor tikus Wistar jantan dibagi ke dalam enam kelompok, yaitu kontrol negatif, kontrol positif, kontrol Na-CMC, serta kelompok P1, P2, dan P3. Pengukuran kadar timbal (Pb) dalam darah dilakukan dengan menggunakan Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) (Shimadzu AA-7000). Data dianalisis menggunakan IBM SPSS Statistics versi 25.0 uji Wilcoxon. Hasil uji Wilcoxon menunjukkan nilai p = 0,068 (<0,05), nilai tersebut lebih besar dari 0,05, sehingga tidak terdapat pengaruh yang signifikan antara kadar Pb sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok. Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak daun salam secara deskriptif menurunkan kadar Pb, tetapi tidak signifikan secara statistik, dan peningkatan dosis belum menunjukkan hasil yang signifikan.*

Kata Kunci - *Daun salam* (*Syzygium polyanthum (Wight) Walp.); Timbal (Pb); Tikus Wistar; Atomic Absorption Spectrophotometer*

I. Pendahuluan

Pencemaran logam berat merupakan salah satu penyebab masalah lingkungan yang terus meningkat seiring berkembangnya sektor industri, pertambangan, pertanian, dan transportasi. Limbah yang dihasilkan dari berbagai aktivitas tersebut sering mengandung logam berat berbahaya seperti timbal (Pb), kadmium (Cd), merkuri (Hg), dan kromium (Cr) yang dapat terakumulasi di lingkungan dan menimbulkan dampak negatif bagi organisme hidup [1]. Di Indonesia, peningkatan jumlah kendaraan bermotor yang turut berkontribusi terhadap pencemaran lingkungan melalui emisi gas buang yang mengandung berbagai zat berbahaya termasuk logam berat timbal (Pb) [2]. Data Badan Pusat Statistik Provinsi Jawa Timur menyatakan bahwa jumlah kendaraan bermotor telah mencapai lebih dari 15 juta unit pada tahun 2022 [3]. Kondisi tersebut juga terjadi di Kabupaten Sidoarjo yang merupakan kawasan industri dan penyangga Kota Surabaya sehingga berpotensi meningkatkan paparan logam berat di lingkungan [4].

Salah satu logam berat yang banyak ditemukan sebagai pencemar lingkungan adalah logam berat timbal (Pb), yang dapat masuk ke dalam tubuh melalui sistem pernapasan dan pencernaan serta menimbulkan berbagai gangguan kesehatan. Setelah masuk ke dalam tubuh, timbal akan terdistribusi melalui aliran darah dan terakumulasi pada berbagai organ seperti hati, ginjal, sistem saraf, tulang, dan jaringan lunak lainnya [5]. Paparan timbal (Pb) dapat menyebabkan berbagai gangguan pada tubuh. Pada sistem pencernaan, paparan Pb juga dapat menimbulkan kolik, konstipasi, mual, muntah, dan penurunan nafsu makan. Pada sistem saraf pusat dan saraf tepi, Pb dapat menyebabkan tremor, sakit kepala, leher kaku, demam, penurunan kecerdasan, kejang, penumpukan cairan serebrospinal di otak, hingga gangguan penglihatan akibat kerusakan saraf optik. Pada ginjal, paparan Pb dapat menyebabkan gangguan fungsi ginjal, seperti aminoasiduria, fosfaturia, glukosuria, nefropati, fibrosis, dan atrofi glomerulus. Selain itu, paparan Pb juga dapat mengganggu sistem reproduksi, seperti menyebabkan kematian janin dan kelainan sperma pada laki-laki. Pada keracunan Pb kronis, gejala yang sering muncul antara lain tubuh lemah, nafsu makan menurun, penurunan berat badan, sakit kepala, tremor, keguguran, serta gangguan pada saluran pencernaan. Salah satu tanda neurologis yang khas pada keracunan Pb kronis adalah *wrist drop*, yaitu kondisi ketika pergelangan tangan menjadi terkulai akibat gangguan saraf [6].

Logam berat timbal (Pb) merupakan logam beracun yang dapat mencemari lingkungan dan membahayakan berbagai organisme [7]. Paparan timbal yang berlangsung secara terus-menerus dapat menyebabkan berbagai gangguan kesehatan, seperti kerusakan sistem saraf, gangguan fungsi ginjal, gangguan reproduksi, anemia, serta kerusakan organ vital lainnya. Oleh karena itu, timbal termasuk salah satu logam berat yang perlu mendapatkan perhatian khusus dalam bidang kesehatan dan lingkungan [8]. Paparan timbal dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan, khususnya pada sistem pencernaan, sistem saraf, ginjal, dan fungsi reproduksi. Kondisi itu menunjukkan bahwa diperlukan upaya untuk mengurangi efek buruk logam berat timbal dalam tubuh. Beberapa bahan telah dikaji untuk membantu mengurangi dampak berbahaya logam Pb, salah satunya adalah vitamin yang memiliki kemampuan melawan radikal bebas. Vitamin B6 (piridoksin), vitamin B1 (tiamin), vitamin C, dan vitamin E diketahui dapat membantu tubuh dalam melindungi diri dari efek paparan Pb dengan cara mengurangi stres oksidatif dan mencegah kerusakan sel. Selain itu, beberapa vitamin tersebut juga mungkin bisa membantu menyerap dan mengurangi penumpukan logam berat Pb dalam tubuh [9].

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengurangi dampak toksisitas logam berat adalah dengan memanfaatkan bahan alam yang memiliki kandungan senyawa aktif. Indonesia memiliki beragam tanaman obat yang berpotensi dimanfaatkan sebagai alternatif untuk mengurangi dampak toksisitas logam berat. Salah satu tanaman yang banyak digunakan adalah daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). Daun salam diketahui mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan steroid yang memiliki aktivitas antioksidan [10]. Flavonoid yang terkandung dalam daun salam diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan kuat yang dapat menangkap radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif akibat paparan zat toksik [11]. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang memiliki gugus fungsi hidroksil (-OH) dan oksigen (-O), sehingga dapat bertindak sebagai agen pengkelat (*chelating agent*) yang mampu mengikat ion logam dan membantu mengurangi kadar logam [2]. Hewan coba merupakan hewan yang dikembangbiakkan untuk digunakan sebagai hewan uji coba. Tikus sering digunakan sebagai hewan coba selama bertahun-tahun. Hal ini dikarenakan tikus memiliki karakteristik dan fisiologi yang hampir sama dengan manusia. [10]. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun salam mampu memperbaiki parameter darah pada tikus yang diinduksi kadmium klorida. Dosis ekstrak daun salam yang paling optimal adalah 400 mg/kgBB. Dosis tersebut dikaitkan dengan perbaikan parameter biologis darah, seperti eritrosit, leukosit, trombosit, hemoglobin, dan hematokrit pada tikus yang terpapar $CdCl_2$. Dengan demikian, dosis 400 mg/kgBB dapat digunakan sebagai acuan dosis optimal berdasarkan parameter biologis darah, meskipun penelitian tersebut menggunakan paparan $CdCl_2$, bukan Pb [13]. Namun, penelitian tersebut belum mengkaji secara langsung kemampuan ekstrak daun salam dalam menurunkan kadar logam berat timbal (Pb) dalam darah serta masih terbatas pada paparan kadmium. Oleh karena itu, penelitian mengenai efektivitas ekstrak daun salam terhadap penurunan kadar timbal pada hewan coba masih perlu dilakukan. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) terhadap penurunan kadar logam berat timbal (Pb) pada tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) secara *in vivo*, serta menentukan dosis ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum (Wight) Walp.)* yang terbaik dalam menurunkan kadar timbal (Pb) pada tikus Wistar.

II. Metode

Penelitian ini telah melakukan uji kelaikan etik *(ethical clereance)* di Komisi Kelaikan Etik Penelitian dan Kesehatan (KKEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya dengan nomor 0483/HRECC.FODM/V/2026. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium secara *in vivo* dengan desain *pre-test post-test control group.* Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hewan Coba di Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Proses pengujian determinasi tanaman dilaksanakan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica berada di Kota Batu. Uji Fitokimia dan proses Evaporasi dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Negeri Surabaya, sedangkan pengujian kadar logam berat timbal Pb dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS)* (Shimadzu AA-7000) dilaksanakan di Laboratorium Riset Kimia FMIPA Universitas Negeri Surabaya.

Populasi penelitian adalah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diperoleh dari Buduran, Sidoarjo dengan jenis kelamin jantan berumur 8–10 minggu dengan berat badan 150–200 gram. Sampel penelitian berjumlah 24 ekor tikus

yang ditentukan menggunakan rumus Federer [14]. Kemudian dibagi ke dalam enam kelompok, yaitu kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), kontrol Na-CMC (K-Na CMC), serta kelompok perlakuan ekstrak daun salam dosis 400 mg/kgBB (P1), 600 mg/kgBB (P2), dan 800 mg/kgBB (P3). Daun yang digunakan dalam penlitian yakni daun salam yang diperoleh dari Desa Krikilan, Kec Driyorejo, Kab Gresik. Penelitian ini dilakukan bulan Mei hingga Juni 2026.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah kandang hewan uji lengkap dengan botol minum dan tempat pakan, timbangan analitik, tabung kapiler, blender atau grinder untuk menghancurkan daun, tabung reaksi, *rotary vacum evaporator* (BUCHI R-125), *Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS)* (Shimadzu AA-7000), sarung tangan, masker, jas lab, label dan spidol, beaker glass, corong, sonde lambung, sendok zat, jar maserasi, gelas ukur, pipet, kertas saring, botol vial. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah Tikus Wistar jantan (24 ekor), Daun salam (*Syzygium polyanthum (Wight) Walp.),* Pelarut etanol 96% (teknis), $Pb(CH_3COO)_2$ (p.a), Pakan standar dan air minum, Alkohol 70% (teknis), kapas, tisu, Serbuk Mg (p.a), HCl (p.a), Aquades, $FeCl_3$ (p.a), $CHCl_3$ (p.a), CH_3COOH (p.a), H_2SO_4 (p.a), HNO_3 (p.a), Na-CMC 0,5% (p.a).

Daun salam terlebih dahulu diidentifikasi di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Kota Batu. Ekstrak daun salam dibuat menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Daun basah yang digunakan ialah 900 gram dan diperoleh sebanyak 300 gram serbuk daun salam dimaserasi menggunakan 900 mL etanol 96% selama 3 hari dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Maserat kemudian dipekatkan dengan suhu 44^oC hingga diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstraksi daun salam kemudian dihitung rendemennya untuk mengetahui persentase ekstrak yang diperoleh dari berat simplisia kering yang digunakan. Perhitungan rendemen dilakukan dengan membandingkan berat ekstrak kental dengan berat simplisia kering, kemudian dikalikan 100%. Berdasarkan hasil perhitungan, dari 300 gram simplisia kering daun salam diperoleh ekstrak kental sebanyak 37,2 gram. Rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 12,4%. Sebelum perlakuan, tikus diadaptasikan selama 7 hari pada kondisi laboratorium. Kelompok K(-) hanya diberikan pakan dan air minum selama penelitian. Kelompok K(+), K-Na CMC, P1, P2, P3 diinduksi timbal asetat dosis 700 mg/kgBB secara oral selama 7 hari. Selanjutnya kelompok P1, P2, P3 diberikan ekstrak daun salam dengan dosis masing- masing 400, 600, dan 800 mg/kgBB selama 14 hari, sedangkan kelompok Kontrol Na CMC diberikan Na-CMC 0,5%. Untuk kelompok K(-) dan K(+) hanya diberikan makan minum selama 14 hari. Induksi Pb dan ekstrak diberikan 1x sehari sebanyak 1 ml. Pengambilan sampel darah dilakukan 2x yakni setelah pemberian Pb selama 7 hari dan ekstrak selama 14 hari sebanyak 2 mL melalui vena retro-orbital dan dimasukkan ke dalam tabung EDTA. Sampel kemudian didestruksi menggunakan asam nitrat (HNO_3) sebanyak 10 ml dan dipanaskan dengan suhu 120^o hingga diperoleh larutan jernih kemudian disaring 2x menggunakan kertas saring biasa [15]. Kadar timbal (Pb) dalam darah dianalisis menggunakan metode *Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS)* (Shimadzu AA-7000), *Hallow Cathode Lamp* (HCL) Pb, Gas Asitilen (C_2H_2), Laju alir asitilen 1,8-2,0 L/menit, laju alir udara 15 L/menit, diukur dengan panjang gelombang 217 nm. Setelah semua prosedur penelitian selesai, tikus Wistar dieutanasia sesuai dengan prosedur etika penelitian hewan yang telah ditetapkan.

Data dianalisis menggunakan IBM SPSS Statistics versi 25.0. Sebelumnya dilakukan pengujian normalitas dan homogenitas untuk mengetahui karakteristik data. Uji normalitas dilakukan dengan metode Shapiro-Wilk, sedangkan uji homogenitas menggunakan metode Levene Test. Selanjutnya di uji dengan uji Wilcoxon untuk mengetahui pengaruh nilai data sebelum *(pre-test)* dan sesudah perlakuan *(post-test)* pada setiap kelompok. Hasil uji dianggap signifikan jika nilai p kurang dari 0,05. Analisis data penelitian dilakukan menggunakan SPSS dengan taraf kepercayaan 95% dan tingkat signifikansi 5% ($\alpha = 0,05$).

III. Hasil dan Pembahasan

a. Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman atau determinasi tumbuhan ialah mengidentifikasi atau memastikan identitas suatu tumbuhan dengan menentukan nama yang tepat serta posisi tumbuhan tersebut dalam sistem klasifikasi. Klasifikasi merupakan suatu cara untuk mengelompokkan dan mempelajari suatu objek secara sistematis berdasarkan persamaan dan perbedaan ciri atau sifat yang dimilikinya [16]. Pengujian Determinasi Tanaman dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Kota Batu, dengan nomor 000.9.3/1702/102.20/2026 yang menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.).

b. Preparasi Sampel

Penelitian ini menggunakan metode maserasi yakni metode ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam bahan tanaman menggunakan pelarut dalam wadah pada suhu ruang, kemudian dilakukan pengadukan secara berkala [17]. Etanol 96% dipilih sebagai pelarut ekstraksi karena dapat menghasilkan rendemen dan kandungan senyawa aktif yang lebih tinggi dibandingkan etanol 70%. Kandungan air yang lebih rendah pada etanol 96% membuat pelarut ini lebih efektif dalam melarutkan senyawa flavonoid yang mudah larut dalam alkohol [18]. Etanol 96% yang digunakan sebagai pelarut memiliki sifat polar, meskipun adanya gugus hidrokarbon dalam strukturnya menyebabkan tingkat kepolarannya lebih rendah dibandingkan air. Pada proses maserasi, etanol 96% berinteraksi dengan simplisia dengan menembus dinding dan membran sel tanaman, kemudian melarutkan senyawa metabolit sekunder yang memiliki tingkat kepolaran sesuai dengan sifat pelarut. Interaksi antara pelarut dan simplisia selama proses maserasi membantu menarik senyawa aktif dari jaringan daun salam ke dalam pelarut, sehingga diperoleh ekstrak yang mengandung senyawa seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Dan diperoleh hasil 12,4% dengan demikian nilai rendemen yang lebih besar menunjukkan bahwa jumlah ekstrak yang dihasilkan semakin tinggi. Rendemen ekstrak kental dinyatakan memenuhi syarat apabila nilainya tidak kurang dari 10% [19]. Setelah dimaserasi kemudian dilanjutkan dengan uji fitokimia dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Uji Fitokimia

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	+
	Wagner	Endapan coklat	+
	Dragendorff	Endapan jingga	+
Flavonoid	Mg + HCl pekat + etanol	Warna merah	+

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
Saponin	-	Adanya busa stabil	+
Steroid	Liebermann–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	+

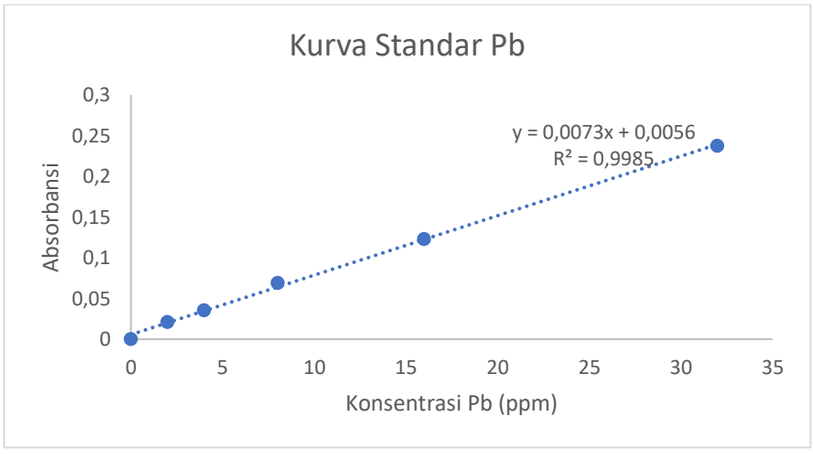
Tabel 1 menunjukkan bahwa daun salam mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tanin. Hasil uji fitokimia yang diperoleh selaras dengan penelitian sebelumnya bahwa daun salam mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tanin [20]. Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) tidak hanya digunakan sebagai bahan bumbu masakan, tetapi juga memiliki manfaat dalam bidang kesehatan karena mengandung berbagai zat aktif biologis, seperti alkaloid, fenol, tanin, steroid, saponin, triterpenoid, dan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Antioksidan bekerja untuk melawan radikal bebas, yaitu molekul atau atom yang tidak stabil dan memiliki elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas bisa bereaksi dengan molekul lain dan merusak sel serta jaringan dalam tubuh [21].

c. Hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) merupakan mamalia dari ordo Rodentia yang banyak digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian biomedis dan toksikologi karena memiliki kemiripan fisiologi dengan manusia. Selain itu, tikus putih mudah dipelihara di laboratorium karena memiliki kemampuan adaptasi yang baik, pertumbuhan yang cepat, dan tingkat reproduksi yang tinggi [12]. Adapun kriteria inklusi hewan yakni jenis kelamin laki-laki dengan usia 8-10 minggu, dengan berat badan 150-200 gram dalam kondisi sehat, aktif, dan tidak menunjukkan tanda-tanda stress atau penyakit. Adapun kriteria ekslusi (kondisi tikus tidak dapat dilanjutkan saat penelitian) dari Tikus Wistar (Rattus norvegicus) meliputi hewan yang diujikan mati selama adaptasi, hewan mati sebelum penelitian selesai, hewan mengalami luka atau infeksi.

d. Kurva Standar Pb

Kadar Pb dianalisis menggunakan alat AAS (Shimadzu AA-7000) setelah sampel melalui proses destruksi. Destruksi adalah proses memecah matriks sampel dengan cara kimia dan/atau pemanasan agar unsur-unsur yang akan dianalisis dapat lepas dan berbentuk larutan, sehingga siap untuk diperiksa. Destruksi berfungsi untuk memutus ikatan antara senyawa organik dengan logam yang akan dianalisis yaitu Pb(Asetat) menjadi Pb^{2+} [22]. Hasil pengukuran dihitung berdasarkan kurva standar Pb. Berikut merupakan hasil kurva standar timbal (Pb) yang diperoleh dari pengukuran larutan standar menggunakan AAS (Shimadzu AA-7000). Kurva ini digunakan sebagai acuan dalam menentukan kadar Pb pada sampel darah tikus:



Gambar 1. Kurva Standar Pb

Kurva kalibrasi pada Tabel diatas menghasilkan persamaan regresi linier y = 0,0073x + 0,0056 dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,998. Nilai koefisien korelasi yang mendekati 1 menunjukkan bahwa hubungan antara konsentrasi larutan standar timbal (Pb) dengan nilai absorbansi bersifat linier. Artinya, semakin tinggi konsentrasi larutan standar, maka nilai absorbansi juga semakin meningkat, sehingga kurva kalibrasi dapat digunakan untuk analisis kadar timbal secara akurat [23]. Oleh karena itu, kurva kalibrasi yang diperoleh layak digunakan sebagai dasar dalam penentuan kadar timbal (Pb) pada sampel menggunakan metode AAS. Analisis kuantitatif dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectrophometry* (AAS) memiliki keunggulan, seperti kepekaan yang tinggi (batas deteksi kurang dari 1 ppm) dan analisis relatif cepat serta sederhana, dan interferensinya sedikit [24]. Panjang gelombang 217 nm digunakan dalam pemeriksaan kadar Pb sesuai dengan ketentuan atau metode yang ditetapkan oleh laboratorium tempat pemeriksaan dilakukan.

e. Hasil pengukuran AAS

Tabel 2. Hasil Kadar Pb

Nama sampel	Kadar Pb Darah Pre-test ± SD (ppm)	Kadar Pb Darah Post-test ± SD (ppm)	Persentase Penurunan (%)	Selisih
Kontrol Negatif (K-)	0,0511 ± 0,0012	0,0155 ± 0,0004	69,67	0,0356
Kontrol Positif (K+)	0,4604 ± 0,0131	0,4360 ± 0,0005	5,24	0,0244
Kontrol Na-CMC 0,5%	0,4458 ± 0,0025	0,4281 ± 0,0008	3,96	0,0177

Perlakuan 1 (P1)	0,4467 ± 0,0036	0,0782 ± 0,0061	82,48	0,3685
Perlakuan 2 (P2)	0,4503 ± 0,0029	0,0541 ± 0,0053	87,97	0,3962
Perlakuan 3 (P3)	0,4495 ± 0,0031	0,0372 ± 0,0054	91,72	0,4123

Pengukuran kadar Pb dalam darah diukur menggunakan AAS dengan panjang gelombang 217 nm. Penggunaan AAS sangat ideal untuk mengukur logam berat karena kemampuan sensivitas dan selektivitas yang tinggi dan sangat ideal untuk mengukur logam pada konsentrasi rendah. Secara deskriptif, kadar Pb pada kelompok perlakuan mengalami penurunan setelah pemberian ekstrak daun salam. Penurunan terlihat lebih besar pada kelompok yang mendapatkan ekstrak dibandingkan kelompok kontrol. Kelompok dengan dosis ekstrak lebih tinggi menunjukkan penurunan kadar Pb yang lebih besar. SD (Standard Deviation atau simpangan baku) adalah nilai yang menunjukkan tingkat penyebaran atau variasi data terhadap nilai rata-rata. Nilai SD yang kecil menunjukkan bahwa data antar tikus relatif seragam dan mendekati nilai rata-rata, sedangkan SD yang besar menunjukkan variasi data yang lebih tinggi.

Sebelum dilakukan analisis statistik, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas untuk mengetahui apakah data penelitian berdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan hasil dari uji normalitas dengan metode *Shapiro–Wilk*, ditemukan bahwa kelompok K- (p = 0,002), K-Na-CMC (p = 0,017), P1 (p = 0,001), P2 (p = 0,001), dan P3 (p = 0,001) menunjukkan nilai signifikansi di bawah 0,05 yang berarti data dari kelompok tersebut tidak terdistribusi normal. Kelompok K+ tercatat nilai signifikansi sebesar 0,066 (p > 0,05), yang menandakan bahwa data dalam kelompok ini berdistribusi normal. Hasil uji Shapiro–Wilk menunjukkan bahwa sebagian besar kelompok memiliki nilai p < 0,05, sehingga hasil data penelitian tidak berdistribusi normal. Hasil untuk pengujian homogenitas dengan Levene's Test menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 (p < 0,05). Hasil tersebut menunjukkan bahwa varians data antar kelompok tidak homogen, sehingga asumsi homogenitas varians tidak terpenuhi. Oleh karena itu, analisis selanjutnya menggunakan uji nonparametrik, yaitu uji *Wilcoxon*.

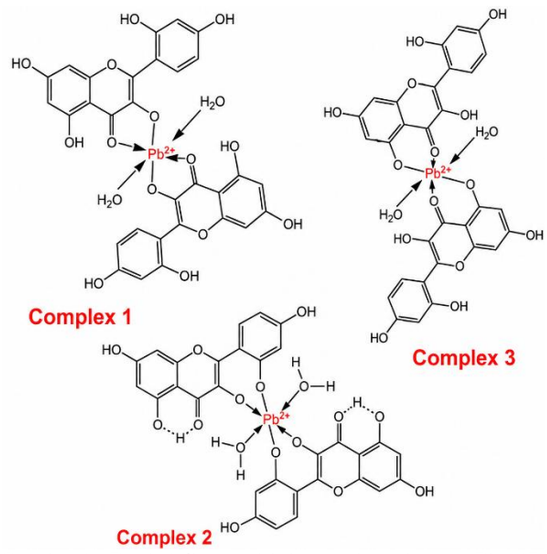
Hasil uji wilcoxon menunjukkan nilai p = 0,068 (>0,05), sehingga penurunan kadar Pb sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok tidak menunjukkan hasil yang signifikan secara statistik. Meskipun secara deskriptif kadar Pb mengalami penurunan setelah perlakuan, penurunan tersebut belum menunjukkan pengaruh yang signifikn secara statistik. Penelitian sebelumya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun salam mampu memperbaiki parameter darah pada tikus yang diinduksi kadnium klorida, dengan dosis 400 mg/kgBB sebagai dosis yang paling optimal. Berdasarkan penelitian tersebut, penelitian ini menggunakan dosis 400, 600, 800 mg/kgBB untuk mengetahui apakah peningkatana dosis dapat meningkatkan efektivitas ekstrak daun salam dalam menurunkan kadar Pb. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan dosis dari 400, 600, 800 mg/kgBB belum menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan kadar Pb darah. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan logam berat yang digunakan serta adanya variasi biologis pada hewan uji. Dengan demikian, dosis ekstrak daun salam yang optimal pada penelitian terdahulu terhadap paparan Cd tidak dapat langsung dijadikan acuan untuk menentukan dosis yang efektif terhadap paparan Pb. Pada penelitian ini, pemberian ekstrak daun salam secara deskriptif menunjukkan penurunan kadar Pb, tetapi peningkatan dosis dari 400, 600, 800 mg/kgBB belum menunjukan peningkatan efektivitas yang bermakna secara statistik [13].

Pada kelompok kontrol negatif (K-), kadar Pb dalam darah menurun dari 0,0511 ppm menjadi 0,0155 ppm dengan selisih sebesar 0,0356 ppm. Namun, kadar yang terdeteksi cukup kecil baik pada pre maupun post. Penurunan tersebut dapat berkaitan dengan mekanisme fisiologis tubuh dalam mengeliminasi zat asing. K(-) dapat mengalami penurunan karena selama 28 hari berada di lingkungan yang memungkinkan paparan Pb dalam jumlah sangat kecil dari air, kandang, atau lingkungan sekitar. Selain itu tubuh tikus memiliki proses eliminasi Pb secara alami, sehingga kadar Pb dapat berubah meskipun tidak diberi induksi maupun ekstrak. Kelompok kontrol positif (K+), kadar Pb menurun dari 0,4604 ppm menjadi 0,4360 ppm dengan selisih 0,0244 ppm. Meskipun tidak diberikan ekstrak daun salam, kadar Pb tetap mengalami penurunan kadar Pb yang terjadi dimungkinkan dari proses fisiologis tubuh hewan coba. Timbal diekskresikan melalui urin, feses, sedangkan sebagian lainnya terakumulasi pada jaringan, terutama tulang [5], [9].

Sedangkan, kelompok kontrol Na-CMC 0,5%, kadar Pb menurun dari 0,4458 ppm menjadi 0,4281 ppm dengan selisih sebesar 0,0177 ppm. Na-CMC berfungsi sebagai bahan pembawa (*vehicle*) dan tidak berperan sebagai komponen aktif yang dapat menurunkan kadar logam berat timbal Pb. Pada kelompok perlakuan P1, tingkat Pb dalam darah berkurang dari 0,4467 ppm menjadi 0,0782 ppm, sehingga selisihnya adalah 0,3685 ppm. Dosis P2, kadar Pb turun dari 0,4503 ppm menjadi 0,0541 ppm dengan perbedaan sebesar 0,3962 ppm, sementara dosis P3 berubah dari 0,4495 ppm menjadi 0,0372 ppm dengan selisih 0,4123 ppm. Menurut keputusan Mentri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1406/MENKES /IX/2002 tentang standar pemeriksaan kadar timbal (Pb) pada spesimen darah orang dewasa adalah 0,1-0,25 ppm [25]. Pada penelitian ini, kadar Pb *pre-test* kelompok P1, P2, P3 berada di atas rentang tersebut. Setelah pemberian ekstrak daun salam *post-test* mengalami penurunan. Dengan demikian, secara deskriptif pemberian ekstrak daun salam menunjukkan penurunan kadar Pb pada ketiga kelompok perlakuan, dengan P3 mengalami penurunan paling besar. Namun, nilai tersebut merupakan acuan untuk manusia dan tidak dapat secara langsung digunakan sebagai nilai normal pada tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). Acuan mengenai kadar Pb darah normal atau batas toksik pada tikus masih terbatas, sehingga interpretasi kadar Pb pada hewan uji perlu mempertimbangkan karakteristik spesies, dosis paparan, serta kondisi penelitian.

Penurunan kadar logam berat timbal (Pb) dalam darah tikus Wistar setelah diberikan ekstrak daun salam diduga disebabkan oleh peningkatan jumlah dosis ekstrak yang diberikan. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid akan semakin banyak, yang berfungsi sebagai antioksidan serta memiliki kemampuan untuk mengikat ion logam berat, sehingga turut membantu menurunkan kadar timbal (Pb). Berdasarkan hasil uji Fitokimia daun salam *(Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Senyawa flavonoid pada daun salam memiliki aktivitas antioksidan yang berperan dalam menangkal radikal bebas dan menghambat proses oksidasi. *Timbal (Pb) yang masuk ke dalam tubuh sebagian besar tesimpan di tulang, sedangkan sebagian lainnya berada dalam darah dan jaringan lunak, seperti otak, hati, dan ginjal. Pb juga dapat meningkatkan pembentukan ROS* (*Ractive Oxygen Species*), yaitu molekul reaktif yang dapat merusak sel apabila jumlahnya berlebihan, kondisi ini disebut stress oksidatif, yaitu ketidakseimbangan antara jumlah ROS dan kemampuan antioksidan tubuh untuk menetralkannya. Pb dapat menghambat kerja enzim yang berperan dalam sintesis heme, yaitu bagian penting dari hemoglobin yang berfungsi mengangkut oksigen dalam darah. Hambatan tersebut dapat mengurangi pembentukan hemoglobin dan meningkatkan resiko terjadinya anemia [9].

Selain itu, flavonoid memiliki gugus hidroksil yang berpotensi berinteraksi dengan ion logam. Saponin juga memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang dapat memberikan efek perlindungan terhadap sel dari kerusakan akibat radikal bebas [26]. Penurunan kadar Pb pada kelompok P1, P2, dan P3 secara deskriptif dapat dihubungkan dengan adanya komponen fitokimia yang terdapat dalam ekstrak daun salam, seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Senyawa-senyawa ini mengandung gugus fungsi yang berpotensi untuk berinteraksi dengan ion logam, terutama melalui gugus hidroksil (–OH) serta gugus yang memiliki atom donor seperti oksigen dan nitrogen. Interaksi ini dapat terjadi lewat mekanisme kelasi, yaitu pembentukan ikatan koordinasi antara ion Pb^{2+} dan atom donor dalam senyawa aktif, sehingga dapat menghasilkan kompleks yang lebih stabil berupa Pb senyawa organik. Secara sederhana, proses ini bisa digambarkan sebagai $Pb^{2+} + 2L \rightarrow [PbL_2]$, di mana L adalah ligan yang berasal dari senyawa-senyawa aktif ekstrak dengan gugus donor elektron. Dengan demikian, senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak daun salam dapat mengikat Pb^{2+} melalui fungsionalnya, sehingga dapat membantu mengurangi Pb dalam bentuk bebas. Namun, menurut hasil analisis statistik dari penelitian ini, penurunan yang terjadi belum menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap kadar Pb dalam darah [2].



Gambar 2. Reaksi flavonoid daun salam dengan Pb [27]

Gambar tersebut menunjukkan tiga kemungkinan struktur kompleks antara senyawa flavonoid dan ion timbal (Pb^{2+}). Kompleks terbentuk melalui mekanisme kelasi, yaitu pengikatan ion logam oleh atom donor elektron pada molekul flavonoid, terutama atom oksigen pada gugus hidroksil (–OH) dan karbonil (C=O). Ketiga struktur tersebut menggambarkan kemungkinan cara flavonoid mengikat Pb^{2+} melalui atom oksigen sehingga terbentuk kompleks flavonoid–timbal. Perbedaan ketiganya terletak pada susunan molekul dan pola koordinasinya [27].

IV. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, pemberian ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum (Wight) Walp.*) pada dosis 400, 600, dan 800 mg/kgBB menunjukkan penurunan kadar Pb dalam darah tikus Wistar secara deskriptif. Penurunan kadar Pb paling besar terdapat pada dosis 800 mg/kgBB (P3), diikuti dosis 600 mg/kgBB (P2) dan 400 mg/kgBB (P1). Namun, secara statistik peningkatan dosis belum menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan kadar Pb. Dengan demikian, peningkatan dosis dari 400 hingga 800 mg/kgBB menunjukkan kecenderungan penurunan kadar Pb yang lebih besar, tetapi belum terbukti memberikan pengaruh yang signifikan.