Effectiveness of Moringa Seed Extract *(Moringa oleifera* Lamk.*)* on Reducing Lead (Pb) Heavy Metal Levels in Wistar Rats *(Rattus norvegicus) In Vivo*
[Efektivitas Ekstrak Biji Kelor *(Moringa oleifera* Lamk.*)* terhadap Penurunan Kadar Logam Berat Timbal (Pb) pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) secara *In Vivo*]

Zagita Indah Camelia [1)], Galuh Ratmana Hanum [1) *], Jamilatur Rohmah [2)]

[1)] Progam Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Psikologi, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia
*Email Penulis Korespondensi: galuhratmanahanum@umsida.ac.id

Abstract. *Lead (Pb) is a toxic heavy metal that accumulates and causes health problems. Moringa seeds (Moringa oleifera Lamk.) were obtained from Sedayulawas Village, Lamongan Regency. The study aimed to assess the effectiveness of moringa seed extract in reducing blood Pb levels in Wistar rats and to find the best dose. The research was conducted from May to June 2026 at Muhammadiyah University of Sidoarjo using a pre-test post-test control group design. A total of 24 rats were divided into 6 groups: negative control, positive control, 0.5% Na-CMC control, and extract groups with doses of 1000, 1250, and 1500 mg/kg body weight. All groups except the negative control were induced with 700 mg/kg body weight of lead acetate for seven days, then given Na-CMC or extract for 14 days. Induction was administered orally once a day at 1 mL. Blood Pb levels were analyzed using AAS and SPSS 25 with Shapiro-Wilk, Levene, and Wilcoxon tests (α=0.05). The extract contains alkaloids, flavonoids, saponins, steroids, triterpenoids, phenolics, and tannins. The p-value of 0.068 shows no significant effect on Pb levels. The biggest decrease was at a dose of 1500 mg/kgBW, but there was no best dose.*

Keywords *- Moringa oleifera Lamk.; Heavy Metals; Lead; Rats; Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS).*

Abstrak. *Timbal (Pb) merupakan logam berat toksik terakumulasi dan menimbulkan gangguan kesehatan. Biji kelor (Moringa oleifera Lamk.) diperoleh dari Desa Sedayulawas, Kabupaten Lamongan. Penelitian bertujuan mengetahui efektivitas ekstrak biji kelor dalam menurunkan kadar Pb darah tikus Wistar dan dosis terbaik. Penelitian dilakukan Mei–Juni 2026 di Universitas Muhammadiyah Sidoarjo dengan desain pre-test post-test control group. Sebanyak 24 tikus dibagi menjadi 6 kelompok, kontrol negatif, kontrol positif, kontrol Na-CMC 0,5%, serta kelompok ekstrak dosis 1000, 1250, dan 1500 mg/kgBB. Semua kelompok kecuali negatif diinduksi Pb asetat 700 mg/kgBB selama tujuh hari, lalu diberi Na-CMC atau ekstrak 14 hari. Induksi diberikan oral 1 x sehari 1 mL. Kadar Pb darah dianalisis menggunakan AAS dan SPSS 25 melalui uji Shapiro-Wilk, Levene, dan Wilcoxon (α=0,05). Ekstrak mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tanin. Nilai p=0,068 menunjukkan tidak ada pengaruh signifikan terhadap kadar Pb. Penurunan terbesar pada dosis 1500 mg/kgBB, namun tidak terdapat dosis terbaik.*

Kata Kunci *– Moringa oleifera Lamk.; Logam Berat; Timbal; Tikus; Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS).*

I. PENDAHULUAN

Keberadaan logam berat seperti Pb, Hg, Cd, dan As saat ini menjadi masalah krusial yang memerlukan penelitian lebih lanjut serta strategi pengelolaan yang efektif guna meminimalkan risiko terhadap ekosistem. Paparan timbal (Pb) telah menjadi ancaman global yang sangat serius bagi kelompok rentan seperti, anak-anak dan wanita hamil. UNICEF bersama *Pure Earth* melaporkan bahwa sekitar 1 dari 3 anak atau mencapai sekitar 800 juta anak di dunia memiliki kadar timbal (Pb) dalam darah yang melebihi ambang batas aman intervensi, yaitu 5 μg/dL, dalam laporan yang diterbitkan pada tahun 2020, serta didukung oleh data dari Institute for *Health Metrics and Evaluation* (IHME) pada 2019 yang mengestimasi sekitar 815 juta anak memiliki kadar timbal darah di atas 5 µg/dL [1].

Pencemaran logam berat terutama timbal (Pb) telah menjadi krisis lingkungan global yang masif akibat aktivitas industri seperti pertambangan, peleburan, hingga manufaktur dan daur ulang baterai telah memicu kontaminasi lingkungan berskala luas pada kompartemen udara, tanah, hingga ekosistem perairan, di mana *World Health Organization* (WHO) menegaskan tidak ada ambang batas aman (*no known safe level*) bagi keberadaan timbal di tubuh manusia. Dampak sistemis logam beracun ini sangat fatal, di mana paparan globalnya diperkirakan bertanggung

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.

jawab atas hampir 1 juta kematian dalam setahun akibat penyakit kardiovaskular kronis serta kerusakan sistem saraf permanen pada anak-anak [2].

Polusi timbal (Pb) di Indonesia menjadi masalah lingkungan yang signifikan, terutama di wilayah Jawa Timur seperti di Kabupaten Sidoarjo, merupakan salah satu kawasan industri yang berpotensi meningkatkan pencemaran. Penelitian yang dilakukan pada tahun 2025 menunjukkan bahwa paparan Pb juga ditemukan pada pekerja industri batik di Kampung Batik Jetis, Sidoarjo, Jawa Timur. Kampung Batik Jetis merupakan salah satu sentra produksi batik yang menggunakan pewarna sintetis, seperti naphtol, indigosol, dan rapid. Penggunaan bahan pewarna tersebut berpotensi menjadi salah satu sumber paparan logam berat, termasuk timbal (Pb). Pemeriksaan kadar Pb darah menggunakan Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) pada 19 responden menunjukkan nilai rata-rata sebesar 3,37 ± 1,16 µg/dL. Selain itu, sebanyak 57,9% pekerja memiliki kadar Pb darah yang melampaui batas normal, yaitu 3,5 µg/dL [3].

keberadaan Pb tetap perlu diwaspadai karena bersifat toksik, tidak dapat terdegradasi secara alami, serta dapat terakumulasi dalam organisme dan rantai makanan [4]. Kondisi ini sejalan dengan laporan *National Health and Medical Research Council* tahun 2015 yang menjelaskan bahwa timbal (Pb) dapat diserap melalui kulit, masuk ke aliran darah, dan terdistribusi ke berbagai organ seperti ginjal, hati, serta sistem saraf, sehingga berpotensi menyebabkan gangguan fisiologis yang lebih berat pada paparan jangka panjang [5].

Pengurangan akumulasi logam berat khususnya timbal (Pb) tidak hanya berfokus pada upaya menghilangkan kontaminan dari lingkungan, tetapi juga pada penurunan beban Pb dalam darah organisme. Terapi khelasi dilaporkan dapat membentuk kompleks Pb yang larut air sehingga mempercepat ekskresinya melalui urin serta menurunkan kadar Pb pada darah, otak, dan ginjal. Namun, penggunaan agen pengkelat perlu dibatasi pada kondisi paparan berat karena berpotensi menimbulkan efek samping [6]. Oleh karena itu, eksplorasi bahan alam yang kaya akan metabolit sekunder aktif menjadi alternatif yang menjanjinkan karena sifatnya untuk mengurangi toksisitas Pb [7].

Penentuan dosis ekstrak biji (*Moringa oleifera* Lamk.) dalam penelitian ini didasarkan pada pertimbangan keamanan akut dan farmakologis. Berdasarkan penelitian tahun 2022 melaporkan bahwa pemberian oral ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera* Lamk.*)* pada tikus Wistar tidak adanya mortalitas hingga dosis maksimal 5000 mg/kgBB. Hasil tersebut mengindikasikan nilai LD_{50} oral yang tinggi serta margin keamanan yang luas bagi penggunaan ekstrak biji kelor dalam rentang dosis tinggi. Namun, penelitian tersebut menggunakan ekstrak minyak biji kelor dengan pelarut n-heksana dan berfokus pada toksisitas akut serta perubahan histopatologi hati, sehingga belum memberikan informasi mengenai efektivitas ekstrak biji kelor dalam menurunkan kadar logam berat timbal (Pb) dalam darah [8]. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan untuk mengetahui potensi ekstrak biji kelor (Moringa oleifera Lamk.) yang digunakan dalam penelitian ini dalam menurunkan kadar Pb darah pada tikus Wistar dengan variasi dosis pemberian.

Sementara itu, dari aspek efektivitas, penelitian yang dilakukan pada tahun 2022 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun (*Moringa oleifera* Lamk.) secara oral selama 14 hari dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 1000 mg/kgBB pada tikus Wistar yang diinduksi Pb-asetat 700 mg/kgBB/hari selama 7 hari memberikan efek perbaikan terhadap parameter biologis akibat paparan timbal (Pb), dengan dosis 1000 mg/kgBB menunjukkan efektivitas yang paling baik [9]. Selain itu, penelitian sebelumnya memiliki keterbatasan karena dosis uji hanya mencapai 1000 mg/kgBB, sehingga belum diketahui apakah peningkatan dosis dapat memberikan efektivitas yang lebih optimal. Namun penggunaan ekstrak biji (*Moringa oleifera* Lamk.) sebagai bahan uji terhadap penurunan kadar Pb dalam darah belum dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan dosis 1000 mg/kgBB sebagai dosis dasar dan meningkatkan dosis secara bertahap menjadi 1250 mg/kgBB dan 1500 mg/kgBB untuk mengetahui respons ekstrak biji (*Moringa oleifera* Lamk.) pada dosis yang lebih tinggi terhadap penurunan kadar Pb dalam darah. Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus jantan (*Rattus norvegicus)* galur Wistar karena salah satu hewan model yang paling luas digunakan dalam penelitian biomedis dan toksikologi yang memiliki karakteristik fisiologis yang relatif stabil serta kemiripan metabolik dengan manusia [10].

Penelitian tahun 2020 menunjukkan bahwa ekstrak biji kelor mampu menurunkan kadar Pb pada air limbah industri secara *in vitro*. Namun, belum menggambarkan kemampuan ekstrak biji kelor dalam menurunkan Pb pada sistem biologis. ini juga. Oleh karena itu, penelitian untuk mengembangkan potensi biji kelor perlu dilakukan secara *in vivo* pada tikus Wistar yang diinduksi Pb, serta mengukur kadar Pb darah sebelum dan sesudah pemberian ekstrak pada tiga tingkatan dosis, yaitu 1000, 1250, dan 1500 mg/kgBB [11].

Berdasarkan klasifikasi taksonomi, *M. oleifera* termasuk dalam Filum Angiospermae (tumbuhan berbunga) dan ordo Brassicales [12]. *Moringa oleifera* Lamk. diklasifikasikan sebagai spesies tumbuhan serbaguna (*all-purpose tree*) yang berasal dari kawasan sub-Himalaya dan telah diakui sebagai "pohon ajaib" (*miracle tree*) berkat spektrum luas potensi fitokimia dan terapeutik yang dimilikinya. Berbagai bagian tanaman ini, meliputi daun, biji, batang, dan akar, kandungan protein dan zat aktif lainnya dalam biji ini telah teruji efektif memiliki kemampuan flokulasi dan koagulasi terhadap kontaminan [13].

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.

II. METODE

Penelitian ini telah disetujui dan lolos uji etik dari Komite Etik Universitas Airlangga Surabaya dengan nomor sertifikat : 0467/HRECC.FODM/V/2026. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2026 di Laboratorium Farmakologi untuk pembuatan larutan Pb asetat dan ekstrak, Laboratorium Hewan Coba Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan dan Psikologi Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu untuk uji determinasi tanaman, sedangkan proses evaporasi ekstrak dan uji fitokimia di Laboratorium Kimia Organik dan pengukuran kadar Pb menggunakan AAS di Laboratorium Riset Kimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya. Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan metode eksperimental laboratorik *in vivo* menggunakan rancangan *pretest–posttest control group design.* Penelitian dilakukan untuk menguji efektivitas ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) terhadap penurunan kadar logam berat timbal (Pb) dalam darah tikus Wistar.

Sampel ditentukan dengan teknik *purposive sampling* berdasarkan kriteria penelitian. Kriteria inklusi meliputi tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) berusia 2 bulan, sehat, aktif, responsif, tidak menunjukkan stres, cedera, atau penyakit, dengan berat badan 150–200 g, serta telah diaklimatisasi selama 7 hari. Kriteria eksklusi meliputi tikus yang mengalami sakit, stres berat, penurunan aktivitas atau berat badan selama aklimatisasi, serta kematian sebelum atau selama induksi Pb. Jumlah sampel ditentukan menggunakan rumus Federer. Variabel dalam penelitian ini terdiri atas variabel bebas meliputi pemberian ekstrak biji kelor *(Moringa oleifera* Lamk.) dosis 1000, 1250 dan 1500 mg/kgBB. Variabel terikat meliputi kadar logam berat timbal (Pb) dalam darah. Variabel kontrol meliputi berat badan, jenis kelamin, usia, suhu ruang, konsentrasi dan volume reagen, absorbansi, laju alir, lampu, serta gas pembawa AAS.

Alat yang digunakan dalam proses penelitian meliputi, timbangan analitik (Ohaus PX224/E), sendok zat, hot plate (Sclogex MS7-H550-S), jar gelap, pipet, gelas beaker, labu ukur, gelas ukur, erlenmeyer, spatula, batang pengaduk, tabung vial, corong kaca, *oral gavage needle*, tabung EDTA, kertas saring, ayakan 40 mesh, oven (Mito MO777), *rotary vacuum evaporator* (BUCHI R-215*), mikrohematokrit, Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) (Shimadzu AA-7000), serta blender untuk menghaluskan simplisia, kandang tikus.

Bahan yang digunakan dalam proses maserasi terdiri atas simplisia biji kelor, menggunakan biji kelor tua yang didapatkan dari perkebunan yang berlokasi di Desa Sedayulawas, Kabupaten Lamongan, Jawa Timur, yang telah dikeringkan dan dihaluskan, pelarut etanol 96% (teknis) sebagai medium ekstraksi, serta aquades, pembuatan larutan induksi timbal menggunakan Pb $(CH_3COO)_2$ (p.a, Merck, Jerman) sebagai sumber ion Pb, tikus Wistar jantan didapatkan dari Buduran, Sidoarjo, pakan, sekam didapatkan dari Larangan, Sidoarjo, Na-CMC 0,5% (CDH *Pro analysis),* HNO_3 68% *(Pro analysis),* HCl (Bratachem, *Pro analysis)*, H_2SO_4 (Bratachem, *Pro analysis)*, H_2SO_4 2N (Bratachem, *Pro analysis)*, $FeCl_3$ 1% (Bratachem, *Pro analysis)*, $CHCl_3$ (Bratachem, *Pro analysis)*, NH_3 (Bratachem, *Pro analysis)*, Mg (Bratachem, *Pro analysis)*, reagen Lieberman-Burchard, reagen Mayer, reagen Dragendorff, dan reagen Wagner (Bratachem, *Pro analysis).*

Tahapan maserasi, 1 kg biji kelor basah disiapkan dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40℃, Biji kelor kering dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan mesh 40 untuk memperoleh serbuk dengan ukuran yang seragam. Sebanyak 300 g serbuk simplisia ditimbang, kemudian dimaserasi menggunakan 900 mL etanol 96% dengan perbandingan 1:3 [7], Campuran direndam selama 3 × 24 jam, setiap 1 x 24 jam akan dilakukan penggantian pelarut dan proses pengadukan. Setelah proses maserasi selesai, filtrat disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan residu (2 x penyaringan). Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan rotary vacuum evaporator (BUCHI R-215) pada suhu 44℃ hingga menghasilkan ekstrak kental. Ekstrak selanjutnya disimpan dalam botol hingga digunakan pada tahap penelitian berikutnya [14]. Hasil ekstrak ditimbang dan dihitung rendemennya.

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) berumur sekitar 2 bulan dengan berat badan 150–200 g dalam kondisi sehat. Sebanyak 24 tikus dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing terdiri atas 4 ekor, yaitu kontrol negatif, kontrol positif, kontrol Na-CMC 0,5%, serta 3 kelompok dosis ekstrak 1000, 1250, dan 1500 mg/kgBB. Seluruh kelompok kecuali kelompok kontrol negatif diinduksi Pb asetat dosis 700 mg/kgBB selama 7 hari, sedangkan kontrol negatif hanya diberi pakan dan minum. Setelah itu, kelompok kontrol Na-CMC 0,5% diberikan suspensi Na-CMC 0,5% sebagai kontrol pelarut dan kelompok dosis diberikan ekstrak biji kelor sesuai dosis selama 14 hari. Induksi diberikan secara oral 1 x sehari sebanyak 1 mL. Sampel darah diambil melalui *retro orbital* sebelum perlakuan dan setelah seluruh perlakuan selesai sebanyak 2cc. Setelah pengambilan darah terakhir, tikus dieutanasia sesuai dengan prosedur etik yang telah ditetapkan. Darah dimasukkan ke dalam tabung EDTA, sampel darah ditambahkan 10 ml asam nitrat (HNO_3), lalu dipanaskan di atas *hot plate* pada suhu 120℃ hingga larutan menjadi jernih, sampel disaring menggunakan kertas saring (2 x penyaringan) [15].

Kadar logam berat timbal (Pb) dalam darah dianalisis menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) (Shimadzu AA-7000), *Hollow Cathode Lamp* (HCL) Pb, gas Asetilen (C_2H_2), Laju alir asetilen 1,8–2,0 L/menit, Laju alir udara 15 L/menit, diukur pada panjang gelombang 217 nm, sebagai parameter utama untuk menilai efektivitas ekstrak biji kelor dalam menurunkan kadar Pb. Data dianalisis menggunakan SPSS Statistik versi 25. Uji normalitas

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.

dilakukan menggunakan Shapiro-Wilk, uji homogenitas varians dilakukan menggunakan Levene's Test, uji nonparametrik Wilcoxon. Seluruh uji statistik dilakukan pada taraf signifikansi α = 0,05 dengan tingkat kepercayaan 95%.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Preparasi Sampel

Determinasi tanaman merupakan tahap awal dalam penelitian sebelum dilakukan proses ekstraksi yang bertujuan untuk memastikan identitas spesies yang digunakan sebagai bahan uji. Identifikasi dilakukan melalui karakterisasi morfologi yaitu berdasarkan ciri-ciri yang dapat diamati dan diukur, seperti bentuk, ukuran, dan struktur bagian tanaman [16]. Hasil determinasi di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur, menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan *Moringa oleifera* Lamk. dari suku *Moringaceae*. Hasil ini memastikan bahwa bahan uji telah teridentifikasi dengan benar sehingga layak digunakan sebagai bahan baku ekstraksi dan penelitian efektivitas ekstrak biji kelor sebagai adsorben ion timbal (Pb), serta mendukung validitas hasil penelitian.

Proses pengeringan biji kelor sebagai bahan ekstraksi dilakukan menggunakan oven pada suhu 40℃. Pengeringan menggunakan oven pada suhu 40°C terbukti efektif dan aman karena tidak merusak kandungan aktif dari metabolit sekunder, bahkan mampu mempertahankan kandungan total polifenol serta aktivitas antioksidan yang tinggi dibandingkan metode konvensional lainnya [17]. Pada Tabel 1, hasil rendemen sebesar 10,863%, nilai tersebut termasuk dalam kategori baik karena melebihi 10%, sejalan dengan penelitian tahun 2025 pada biji kelor menggunakan etanol 96% yang memperoleh rendemen sebesar 17,60% dan menyatakan bahwa rendemen >10% tergolong baik yang menunjukkan bahwa etanol mampu mengekstraksi komponen bioaktif biji kelor dalam jumlah yang cukup baik sehingga dapat digunakan untuk tahap penelitian selanjutnya [18], sedangkan pada Tabel 2, hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak biji kelor positif mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, tanin dan fenolik, hal ini selaras dengan penelitian tahun 2023 yang melakukan skrining fitokimia pada biji *Moringa oleifera* Lamk. dan menemukan adanya berbagai senyawa fitokimia, termasuk alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tanin yang bekerja secara sinergis untuk memperkuat sistem pertahanan antioksidan, menetralkan radikal bebas [19].

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu ekstraksi maserasi, dimana merupakan sebuah teknik ekstraksi dingin yang direkomendasikan untuk senyawa termolabil. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%, yang diyakini secara optimal mampu menarik senyawa metabolit sekunder aktif [7]. Metabolit sekunder seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, tanin bersifat polar, sedangkan steroid dan triterpenoid bersifat nonpolar atau semipolar. Pelarut etanol 96% memiliki gugus polar dan non polar sehingga memiliki kemampuan untuk menarik senyawa polar, semi polar, ataupun non polar [20], [21]. Pemilihan metode ekstraksi dingin ini sejalan dengan penelitian tahun 2022 yang menegaskan bahwa maserasi tidak memerlukan pemanasan sehingga meminimalisasi risiko kerusakan senyawa alami biji kelor. Selain itu, proses perendaman ini mengoptimalkan difusi zat aktif keluar dari dinding sel tanaman, yang dibuktikan dengan keberhasilan konfirmasi kualitatif senyawa penting pasca-ekstraksi [22].

Tabel 1. Hasil Maserasi dan Evaporasi Ekstrak Biji Kelor *(Moringa oleifera* Lamk.*)*

Parameter	Hasil pengamatan
Hasil maserasi	Warna kuning cerah Bau etanol
Hasil ekstrak pekat	Warna kuning pekat kental Bau biji kelor Hasil evaporasi 32,589 g
Rendemen	$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental (g)}}{\text{Berat sampel (g)}} \text{ x } 100\ \%$ $= \frac{32{,}589\ \text{g}}{300\ \text{g}}\ 100\ \%$ $= 10{,}863\%$

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.

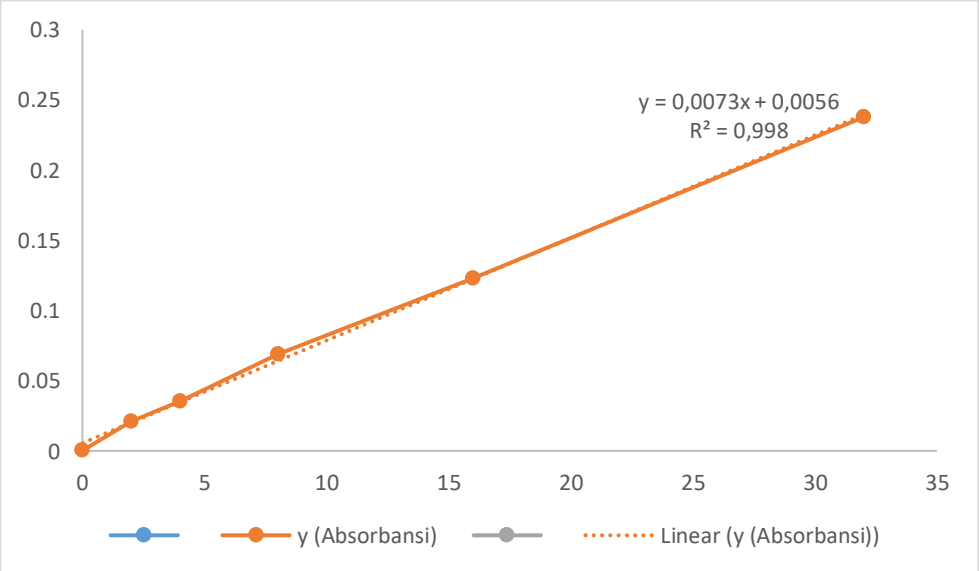
Tabel 2. Hasil Fitokimia

Uji fitokimia	Pereaksi	Hasil (terbentuknya)	Kesimpulan (+)/(-)
Alkaloid	Mayer Wagner Dragendorf	Endapan putih Endapan coklat 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	+

Keterangan : *(+) = Positif, (-) = Negatif.*

2. Analisis Hasil Kadar Logam Berat dengan *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) (Shimatzu AA-7000)

Kadar Pb dianalisis menggunakan alat AAS (Shimadzu AA-7000) setelah sampel melalui proses destruksi untuk memperoleh sampel yang jernih sehingga dapat dianalisis menggunakan spektrofotometer. Hasil pengukuran dihitung berdasarkan kurva standar Pb. Berikut merupakan hasil kurva standart timbal (Pb) yang diperoleh dari pengukuran larutan standart menggunakan AAS. Kurva ini digunakan sebagai acuan dalam menentukan kadar Pb pada sampel darah tikus [15].



Gambar 1. Kurva Standart Logam Timbal (Pb)

Berdasarkan kurva standart Pb yang dibuat menggunakan larutan standar dengan konsentrasi 0; 2; 4; 8; 16; dan 32 mg/L, diperoleh nilai absorbansi berturut-turut sebesar 0,0002; 0,0208; 0,0357; 0,0690; 0,1231; dan 0,2377. Hasil regresi linier menunjukkan hubungan konsentrasi (mg/L) terhadap absorbansi yang sangat linear. Dari persamaan garis pada grafik, hubungan kalibrasinya adalah y = 0,0073x + 0,0056 dengan R^2 = 0,998. Nilai koefisien determinasi yang mendekati 1 mengindikasikan adanya hubungan linear yang sangat kuat antara konsentrasi analit dan absorbansi. Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode AAS memiliki linearitas yang baik untuk analisis kadar timbal (Pb) dalam sampel darah. Linearitas ini sejalan dengan hukum Lambert-Beer, yang menjelaskan bahwa nilai absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi analit selama pengukuran dilakukan pada rentang konsentrasi yang linear. Dengan demikian, konsentrasi standar Pb 0–32 mg/L yang digunakan menunjukkan linearitas yang baik dan kurva kalibrasi dapat digunakan untuk penentuan kadar Pb dalam sampel darah menggunakan 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.

Tabel 3. Perubahan kadar Pb dalam Darah pada Tikus Berdasarkan Kelompok

Kelompok	Kadar Pb Darah Pre Test ± SD (ppm)	Kadar Pb Darah Post Test ± SD (ppm)	Selisih
Kontrol negatif (K-)	0,0511 ± 0,0013	0,0155 ± 0,0004	0,0356
Kontrol positif (K+)	0,4604 ± 0,0131	0,4360 ± 0,0006	0,0244
Kontrol Na-CMC 0,5%	0,4458 ± 0,0026	0,4281 ± 0,0009	0,0177
Dosis 1000	0,4523 ± 0,0018	0,3529 ± 0,0093	0,0994
Dosis 1250	0,4514 ± 0,0034	0,2820 ± 0,0069	0,1694
Dosis 1500	0,4529 ± 0,0017	0,1682 ± 0,0183	0,2847

Berdasarkan Tabel 3, penurunan kadar Pb pada kelompok kontrol negatif (K−), hasil pengukuran kadar Pb darah sebelum perlakuan *(pre-test)* diperoleh sebesar 0,0511 ± 0,0013 ppm, sedangkan setelah perlakuan *(post-test)* sebesar 0,0155 ± 0,0004 ppm, sehingga diperoleh selisih penurunan sebesar 0,0356 ppm. Kadar Pb yang terdeteksi dapat dipengaruhi oleh faktor eksternal, seperti kandungan pakan pelet yang digunakan dalam penelitian ini, terutama bahan nabati seperti serealia dan legum. Tanaman yang tumbuh pada tanah tercemar Pb dapat menyerap dan mengakumulasi Pb melalui akar, sehingga bahan nabati tersebut berpotensi membawa Pb ke dalam pakan. Hal ini didukung oleh penelitian tahun 2015 yang menemukan Pb pada 12 dari 13 sampel pakan tikus berbentuk pelet yang dianalisis dengan kadar maksimum 580 µg/kg [23]. Selain pakan, air dari keran juga dapat menjadi salah satu sumber paparan Pb karena dapat mengandung Pb dari sumber air yang tercemar. Kondisi lingkungan pemeliharaan yang sama dengan kelompok yang diinduksi Pb dapat memungkinkan terjadinya paparan silang pada kelompok lain, sehingga turut memengaruhi kadar Pb darah yang terukur. Namun kadar Pb yang terdeteksi cukup kecil baik pada *pre* maupun *post*. Penurunan kadar Pb pada kelompok ini disebabkan karena tidak diinduksi Pb asetat. Sehingga, penurunan kadar pb berasal dari proses fisiologis tubuh berupa distribusi Pb dari sirkulasi darah menuju jaringan serta eliminasi Pb dari tubuh. Pb yang masuk ke dalam tubuh dapat mengalami distribusi ke berbagai jaringan, termasuk hati, ginjal, dan tulang, serta ditemukan pada saluran gastrointestinal dan feses, yang menunjukkan adanya proses perpindahan dan eliminasi Pb dari tubuh [24].

Kelompok kontrol positif (K+), hasil pengukuran kadar Pb darah sebelum perlakuan *(pre-test)* diperoleh sebesar 0,4604 ± 0,0131 ppm, sedangkan kadar setelah perlakuan *(post-test)* sebesar 0,4360 ± 0,0006 ppm. Hasil tersebut menunjukkkan adanya penurunan kadar Pb sebesar 0,0244 ppm. Kelompok kontrol positif (K+) merupakan kelompok yang diinduksi Pb asetat dengan dosis 700 mg/kgBB selama 7 hari, yang selanjutnya selama 14 hari pemberian Pb dihentikan, sehingga penurunan kadar Pb yang terjadi dimungkinkan dari proses fisiologis tubuh hewan coba tersebut [24]. Penurunan tersebut relatif kecil dari kelompok kontrol negatif (K-), karena kelompok kontrol positif hanya diberikan Pb asetat dan tidak diberi ekstrak biji kelor, sehingga tidak terdapat perlakuan yang secara khusus ditujukan untuk membantu penurunan kadar Pb.

Kelompok kontrol Na-CMC 0,5%, kadar Pb darah sebelum perlakuan *(pre-test)* sebesar 0,4458 ± 0,0026 ppm dan setelah perlakuan *(post-test)* sebesar 0,4281 ± 0,0009 ppm, dengan selisih penurunan sebesar 0,0177 ppm. Penurunan kadar Pb pada kelompok ini relatif kecil dari kelompok kontrol positif (+) dan kontrol negatif (-), karena kelompok kontrol Na-CMC 0,5% tidak diberikan ekstrak biji kelor, pemberian Na-CMC 0,5% sebagai pelarut tidak menunjukkan penurunan kadar Pb yang besar. Hal tersebut dapat dikaitkan pada pemberian Na-CMC 0,5% sebagai *vehicle* yang tidak memengaruhi penurunan kadar Pb. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian yang dilakukan pada tahun 2025, yang menunjukkan bahwa pemberian Pb asetat pada kelompok yang diberikan *vehicle* berupa Na-CMC 0,5% tidak menunjukkan perbedaan kadar Pb darah yang signifikan dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberikan Pb. Dengan demikian, Na-CMC 0,5% sebagai *vehicle* tidak memberikan pengaruh bermakna terhadap kadar Pb darah [25].

Hal ini juga mengindikasikan bahwa penggunaan Na-CMC 0,5% murni berfungsi sebagai kontrol pelarut dan tidak memiliki pengaruh atau efektivitas dalam menurunkan kadar timbal (Pb) dalam darah hewan uji. Hal ini didukung oleh Panel ANS EFSA 2018 yang menyatakan bahwa selulosa termodifikasi, termasuk sodium carboxymethyl cellulose (Na-CMC), tidak diserap secara utuh dan tidak mengalami fermentasi di saluran pencernaan tikus maupun manusia. Senyawa ini diekskresikan hampir seluruhnya dalam bentuk tidak berubah melalui feses, sedangkan hanya sebagian kecil metabolitnya yang diekskresikan melalui urin atau udara ekspirasi, serta tidak menunjukkan adanya akumulasi dalam tubuh. Oleh karena itu, Na-CMC hanya berfungsi sebagai *vehicle* atau *suspending agent* untuk mendispersikan ekstrak sehingga memudahkan pemberian secara oral dan tidak memiliki aktivitas farmakologis yang memengaruhi penurunan kadar Pb darah [26].

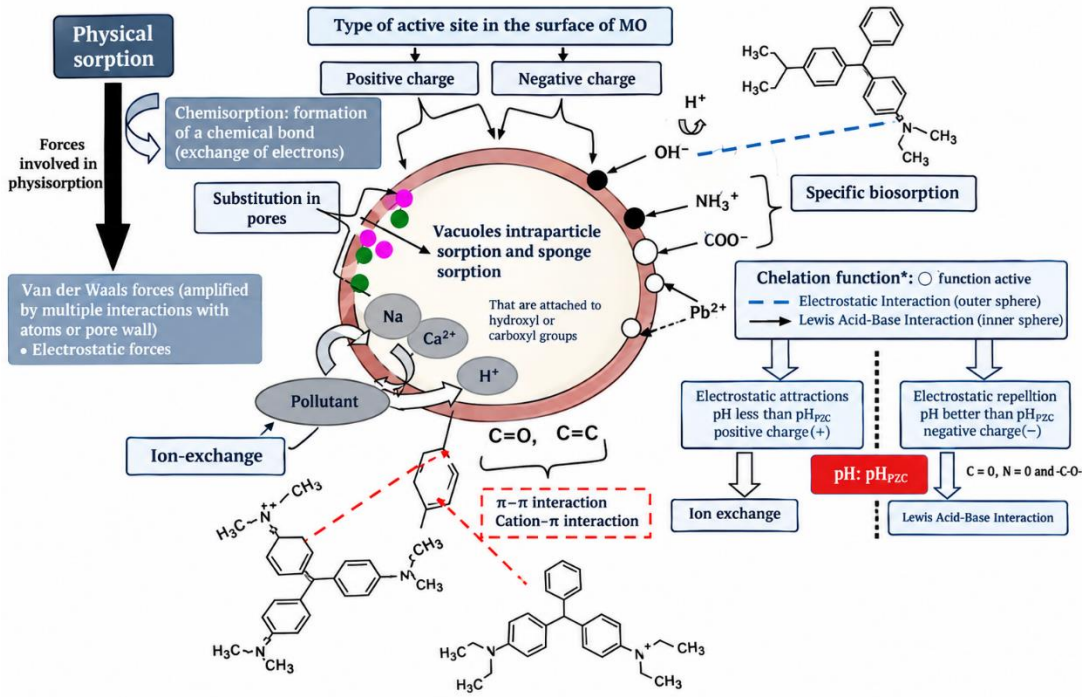
Namun, penurunan pada 3 kelompok dosis menunjukkan pola yang lebih besar seiring dengan peningkatan dosis ekstrak biji kelor pada dosis 1000, 1250, dan 1500 mg/kgBB. Penurunan terbesar pada dosis 1500 mg/kgBB dengan

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.

kadar Pb darah *pre-test* sebesar 0,4529 ± 0,0017 ppm, dan *post-test* sebesar 0,1682 ± 0,0183 ppm, sehingga diperoleh selisih penurunan sebesar 0,2847 ppm. Pola tersebut menunjukkan adanya kecenderungan hubungan dosis-respons, sehingga penurunan kadar Pb pada kelompok perlakuan diduga tidak hanya dipengaruhi oleh proses eliminasi fisiologis, tetapi juga oleh pemberian ekstrak biji kelor yg mengandung berbagai senyawa fitokimia, termasuk alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tanin yang bekerja secara sinergis untuk memperkuat sistem pertahanan antioksidan, menetralkan radikal bebas [19].

Hasil tersebut sejalan dengan penelitian tahun 2020 yang menggunakan ekstrak biji *Moringa oleifera* untuk menurunkan logam berat timbal pada air limbah industri secara *in vitro* dengan variasi konsentrasi ekstrak 125–750 mg/L. Pada konsentrasi 500 mg/L, kadar Pb pada 3 sampel limbah dari perusahaan industri yaitu GB Tannery menurun dari 1,90 menjadi 0,06 mg/L, Muhaza Tannery dari 1,40 menjadi 0,04 mg/L, dan Z-Tannery dari 1,73 menjadi 0,06 mg/L. Kemampuan penurunan Pb tersebut berkaitan dengan kandungan senyawa dan gugus fungsi pada biji kelor yang dapat berinteraksi dengan ion logam [11].

Berdasarkan uji fitokimia biji kelor *(Moringa oleifera* Lamk.*)* mengandung senyawa fitokimia, termasuk alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tanin. Proses penyerapan (adsorbsi) logam berat oleh biji kelor terjadi karena adanya gugus fungsi yang reaktif, termasuk yang terkandung dalam polifenol seperti flavonoid dan tanin, seperti gugus hidroksil (-OH), amida (-NH), karbonil (C=O), serta ikatan eter (-C-O-C-) pada permukaan biomassa yang bertindak sebagai ligan. Gugus-gugus aktif tersebut mengikat kation logam melalui mekanisme kelasi, kompleksasi, dan pertukaran ion, di mana pada pH optimum yaitu pH 5 terjadi gaya tarik elektrostatik antara ligan bermuatan negatif dengan kation logam berat bermuatan positif (seperti Pb^{2+}), sehingga ion logam dapat terikat secara stabil [27]. Mekanisme tersebut ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme *Moringa oleifera* Lamk. dengan Logam Berat Timbal (Pb) [28].

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar timbal (Pb) darah setelah perlakuan (*post-test*) pada kelompok kontrol negatif (K−) adalah 0,0155 ± 0,0004 ppm, kelompok K+ sebesar 0,4360 ± 0,0006 ppm, kelompok Na-CMC 0,5% sebesar 0,4281 ± 0,0009 ppm, kelompok D1000 sebesar 0,3529 ± 0,0093 ppm, kelompok D1250 sebesar 0,2820 ± 0,0069 ppm, dan kelompok D1500 sebesar 0,1682 ± 0,0183 ppm. Berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1406/MENKES/IX/2002, ambang batas kadar timbal (Pb) dalam spesimen darah orang dewasa ditetapkan sebesar 0,1–0,25 ppm. Dengan demikian, kadar Pb pada kelompok K− berada di bawah ambang batas, sedangkan kelompok K+, Na-CMC 0,5%, D1000, dan D1250 berada di atas ambang batas yang ditetapkan. Sementara itu, kadar Pb pada kelompok D1500 berada dalam rentang ambang batas sehingga termasuk kategori aman berdasarkan peraturan tersebut [29]. Selain itu pada kelompok D1500 juga memberikan penurunan kadar Pb yang paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji kelor dapat membantu menurunkan kadar Pb darah, meskipun pada penelitian ini kadar Pb setelah perlakuan belum mencapai

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.

batas normal. Acuan tersebut berlaku untuk spesimen darah manusia, khususnya orang dewasa, sehingga tidak dapat digunakan secara langsung untuk menentukan kategori aman atau tidak aman pada darah tikus Wistar. Keterbatasan data mengenai nilai normal atau ambang batas kadar Pb dalam darah tikus Wistar menyebabkan ketentuan tersebut hanya digunakan sebagai pembanding secara deskriptif.

Hasil pemeriksaan kadar Pb dalam darah menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) selanjutnya dianalisis secara statistik SPSS versi 25. Data terlebih dahulu diuji normalitasnya menggunakan metode Shapiro Wilk. Hasil uji menunjukkan bahwa kelompok K− ($p = 0,002$), K NaCMC ($p = 0,017$), D1000 ($p = 0,007$), D1250 ($p = 0,003$), dan D1500 ($p = 0,003$) memiliki nilai signifikansi kurang dari 0,05 sehingga data pada kelompok tersebut tidak berdistribusi normal. Sementara itu, kelompok K+ memiliki nilai signifikansi sebesar 0,066 ($p > 0,05$), yang menunjukkan bahwa data pada kelompok tersebut berdistribusi normal. Dengan demikian, secara keseluruhan data penelitian tidak memenuhi asumsi normalitas. Dilanjutkan uji homogenitas varians melalui Levene's Test menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$), yang menunjukkan bahwa varians antar kelompok tidak homogen. Karena asumsi normalitas dan homogenitas tidak terpenuhi, analisis data dilanjutkan dengan pendekatan nonparametrik. Berdasarkan hasil uji Wilcoxon, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,068 ($p > 0,05$) pada seluruh kelompok. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perbedaan kadar Pb sebelum dan sesudah perlakuan belum mencapai signifikansi statistik. Penelitian tahun 2025 menunjukkan bahwa pemberian biji kelor pada kelompok perlakuan tidak menghasilkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Hasil tersebut dapat mendukung penelitian ini bahwa pemberian ekstrak biji kelor pada kelompok perlakuan tidak selalu diikuti oleh perubahan yang signifikan secara statistik dibandingkan kelompok kontrol [30].

IV. KESIMPULAN

Hasil penelitian pada seluruh kelompok menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,068 ($p > 0,05$), sehingga tidak terdapat pengaruh yang signifikan antara kadar Pb sebelum dan sesudah perlakuan secara keseluruhan. Meskipun demikian, secara selisih terdapat penurunan terbesar kadar Pb pada kelompok perlakuan ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera* Lamk.*)* pada dosis 1500 mg/kgBB sebesar 0,2847 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji kelor *(Moringa oleifera* lamk.*)* berpengaruh terhadap penurunan kadar Pb darah tikus Wistar *(Rattus norvegicus).* Namun, secara statistik tidak terdapat dosis yang terbukti paling baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Universitas Muhammadiyah khususnya Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan dan Psikologi serta Laboratorium Hewan Coba yang telah mendukung proses penelitian. Terima kasih kepada UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu dan Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya yang telah memberikan fasilitas dan bantuan dalam pelaksanaan uji determinasi tanaman, proses evaporasi ekstrak, dan uji fitokimia sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

REFERENSI

[1] United Nations Children's Fund (UNICEF), "The Toxic Truth: Children's Exposure to Lead Pollution Undermines a Generation of Future Potential", New York, NY, USA, 2020. Available: https://www.unicef.org/media /73246/file/The-toxic-truth-childrens-exposure-to-lead-pollution. Diakses: 03 Juli 2026.

[2] World Health Organization, "Lead Poisoning and Health," WHO Fact Sheet, 2024. Available: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health. Diakses: 18 Juli 2026.

[3] K. P. Sari, G. R. Hanum, J. Rohmah, and Puspitasari, "Correlation Between Levels of Heavy Metal Lead (Pb) and Cadmium (Cd) and Description of Hemoglobin Levels in Batik Industry Workers in Jetis, Sidoarjo," *UMSIDA Preprints Server*, 2025, doi: 10.21070/ups.9073.

[4] E. Purnomo, H. P. Kusumaningrum, A. Budiharjo, and A. T. Lunggani, "Tingkat Kontaminasi Tembaga dan Timbal pada Perairan Pelabuhan Tanjung Emas Semarang," *J. Ilmu Lingkung.*, vol. 23, no. 5, pp. 1378–1384, 2025, doi: 10.14710/jil.23.5.1378-1384.

[5] B. P. Salindra, P. T. Ningrum, and Y. Ariyanto "Analysis Of Lead Content (Pb) in Waste Streams and Well Water and Public Health Complaints Around," *J. Biol. Lingkungan, Ind. Kesehatan.*, vol. 8, no. 2, pp. 171–179, 2022, doi: 10.31289/biolink.v8i2.5619.

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.

[6] M. S. Collin *et al.*, " Bioaccumulation of lead (Pb) and its Effects on Human : A review," *J. Hazard. Mater. Adv.*, vol. 7, no. 7, pp. 100094, 2022, doi: 10.1016/j.hazadv.2022.100094.

[7] T. W. Handayani, Y. Yusuf, and J. Tandi, "Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) dengan Metode Spektrofotometri UV- Vis," *J. Ris. Kim.*, vol. 6, no. 3, pp. 230–238, 2020, doi:10.22487/kovalen.2020.v6.i3.153 24.

[8] M. U. E. Dibua, D. E. Garba, E. C. Elechenu, S. C. Emencheta, and E. S. Okeke, "Assessment of Acute Toxicity , LD 50 and Histopathological Evaluation of *Nigella sativa* and *Moringa oleifera* Seed Extracts in Wistar Rats," *J. Nat. Prod. Res. Gr.*, vol. 6, no. 11, pp. 1840–1843, 2022, doi: 10.26538/tjnpr/v6i11.15.

[9] A. Saprasetya, D. Laksana, H. Notopuro, and A. Mustika, "Ameliorative Effects of *Moringa* (*Moringa oleifera Lam.*) Leaves Extract on Lead-Induced Oxidative Stress, Hepcidin and δ-Alad Levels in Rat's Blood," *J. Farmakognosi.,* vol. 14, no. 6, pp. 856–862, 2022.

[10] S. Lama, O. Merlin-Zhang, and C. Yang, "In Vitro and In Vivo Models for Evaluating the Oral Toxicity of Nanomedicines," *J. Nanomaterials.*, vol. 10, no. 2177, pp. 1-35, 2020, doi: 10.3390/nano10112177.

[11] M. A. Tanko, B. Y. Sanda, and M. H. Bichi, "Application of *Moringa Oleifera* Seed Extract (*Mose*) in the Removal of Heavy Metals from Tannery Wastewater," *Niger. J. Technol. Dev.*, vol. 17, no. 2, pp. 70–78, 2020, doi: 10.4314/njtd.v17i2.1.a

[12] N. Younis, M. I. Khan, T. Zahoor, and M. N. Faisal, "Phytochemical and Antioxidant Screening of *Moringa oleifera* for its Utilization in the Management of Hepatic Injury," *J. Front. Nutr.*, vol. 9, no. 3, pp. 1–11, 2022, doi: 10.3389/fnut.2022.1078896.

[13] S. Divya, V. K. Pandey, R. Dixit, S. Rustagi, and T. Suthar, "Properties of *Moringa oleifera*: A Comprehensive Review," *J. Nutrients.*, vol. 16, no. 3423, pp. 1–22, 2024, doi:10.3390/ nu16193423.

[14] J. A. Nadiva, M. I. Yusuf, and J. Baco, "Uji Aktivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Mengkudu *(Morinda citrifolia*) dan Daun Cocor Bebek *(Kalanchoe pinnata)* Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Tikus Putih *(Rattus norvegicus)*," *J. Pharm. Mandala Waluya.*, vol. 4, no. 5, pp. 319–327, 2025, Available: https://jurnal-pharmaconmw.com/jpmw/index.php/jpmw/article/view/165/.

[15] I. N. A. Yuanita Windusari, "Deteksi Frekuensi Distribusi Timbal Dalam Darah Pekerja Pengisi Bahan," *J. Kesehat. Lingkung. Indonesia.*, vol. 18, no. 1, pp. 62–66, 2019, doi:10.14710/jkli.18.1.62-66.

[16] C. H. Septiningrum, R. Ariastuti, and A. Ahwan, "Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun Markisa Ungu *(Passiflora edulis Sims)," J. Farm. SYIFA.*, vol. 2, no. 2, pp. 37–41, 2024, doi:10.63004/jfs.v2i2.430.

[17] M. Babarabie, M. Mohammadi, A. Ghorbanzadeh, S. Afsharipour, and F. Salari, "Effect of Drying Conditions on the Preservation of Selected Bioactive Compounds In *Moringa Oleifera* Aqueous Extract : Acetic Acid , Butyric Acid , Γ-Aminobutyric Acid , Salicin , and Glycine," *J. BMC Plant Biol.*, vol. 25, no. 1432, pp. 1–11, 2025, doi: 10.1186/s12870-025-07485-8.

[18] R. Hafidz, Ahwan, and R. Ariastuti, " Uji Kandungan Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Kelor *(Moringa oleifera* L.*)* dan Daun Sirih Cina (*Peperomia pellucida* L.)," *J. Borobudur Pharmacy Review.*, vol. 5, no. 1, pp. 1–8, 2025, doi: 10.31603/bphr.v5i1.13260.

[19] S. Reji and S. J. A. Priya, " A Study on the Nutrient Content, Phytochemicals, and Antioxidant Potential of Raw, Germinated, and Fermented *Moringa oleifera* Seeds," *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology (IJRASET).*, vol. 11, no. VIII, pp. 847–855,2023, doi: 10.22214/ijraset.2023.55245.

[20] Y. Dwi, A. Dwi, and Y. Andayani, "Analisis Kualitatif Kandungan Fenolik dalam Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Metanol dari Ekstrak Kulit Jagung (Zea mays L .)," *J. Ilmu Kefarmasian*, vol. 2, no. 1, pp. 20–24, 2021, doi: 10.31764/lf.v2i1.3758.

[21] A. R. W. and Safwan, "Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Terhadap Ekstrak Tanaman Ranting Patah Tulang (Euphorbia tirucalli L .)," *J. Ilmu Kefarmasian.*, vol. 1, no. 1, pp. 24–27, 2020, doi: 10.31764/lf.v1i1.1208.

[22] L. Fitriah and R. S. Pratimi, "Phytochemical Content Analysis Of *Moringa* Seed (*Moringa oleifera* L.*)* Maceration Method," *J. Multidiscip. Sci.*, vol. 1, no. 2, pp. 71–75, 2022, doi:10.58330/prevenire.v1i2.25.

[23] R. Mesnage, N. Defarge, L. Rocque, and J. S. De, "Laboratory Rodent Diets Contain Toxic Levels of Environmental Contaminants : Implications for Regulatory Tests," *J. Pone.*, vol. 10, no. 7, pp. 1–17, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0128429.

[24] A. L. Wani, A. Ara, and J. A. Usmani, "Lead toxicity: A review," *J. Interdisciplinary Toxicology.*, vol. 8, no. 2, pp. 55–64, Jun. 2015, doi: 10.1515/intox-2015-0009.

[25] Y. Zhang *et al.*, "Lead-induced Hypertension and Cognitive Dysfunction: Brain Amyloid Pathology," *J. European Journal of Medical Research*, vol. 30, no. 720, pp. 14, 2025, doi: 10.1186/s40001-025-02965-x.

[26] V. Bampidis *et al.*, "Safety and Efficacy of Sodium Carboxymethyl Cellulose for All Animal Species," *J.*

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.

EFSA., vol. 18, no. 7, pp. 6211 , doi:10.2903/j.efsa.2020.6211.
[27] V. U. Nwagbara, "Removal of Lead , Cadmium , and Copper from Water Using *Moringa Oleifera* Seed Biomass," *Journal of Water and Climate Change.*, vol. 13, no. 7, pp. 2747–2760, 2022, doi: 10.2166/wcc.2022.091.
[28] A. Benettayeb, M. Usman, C. Calvin, T. Adam, and B. Haddou, "A critical review with emphasis on recent pieces of evidence of *oleifera* biosorption in water and wastewater treatment," *J. Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 29, no. 12, pp. 48185–48209, 2022, doi: 10.1007/s11356-022-19938-w.
[29] N. Sudarma, "Hubungan Kadar Timbal (Pb) dalam Darah dengan Kadar Hemoglobin serta Jumlah Eritrosit pada Pekerja di Terminal Ubung Denpasar 2019," *J. Sintesa.*, vol. 13, no. 10, pp. 265–274, 2020, doi: 10.36002/snts.v0i0.1260.
[30] F. O. Adetuyi, E. S. Akintimehin, K. O. Karigidi, and A. O. Orisawayi, "Safety Evaluation of Fermented and Nonfermented *Moringa oleifera* Seeds in Healthy Albino Rats : Biochemical , Haematological , and Histological Studies," *J. Food Sci.*, vol. 2025, no. 1, pp. 1–12, 2025, doi: 10.1155/ijfo/2694100.

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.