



# JNPH

Volume 11 No. 1 (April 2023)

© The Author(s) 2023

## **PENGARUH KITOSAN TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA OVARIUM TIKUS (RATTUS NORVEGICUS) BETINA GALUR WISTAR YANG TERPAPAR TIMBAL ASETAT (PB)**

## **THE EFFECT OF CHITOSAN ON MALONDIALDEHYD (MDA) LEVELS IN THE OVARIUM OF FEMALE WISTAR RATS (RATTUS NORVEGICUS) EXPOSURE TO LEAD ACETATE (PB)**

**SRI NENGSI DESTRIANI, ASRI IMAN SARI, DENI PARLINDUNGAN,  
DENI MARYANI, DARA HIMALAYA, TASYA DWI DAMAYANTI  
PROGRAM STUDI KEBIDANAN, FMIPA, UNIVERSITAS BENGKULU  
PROGRAM STUDI KEBIDANAN, STIKES DR. SOEBANDING, JEMBER  
PENDIDIKAN IPA, FKIP, UNIVERSITAS BENGKULU  
Email: [srinengsi@unib.ac.id](mailto:srinengsi@unib.ac.id)**

### **ABSTRAK**

Pendahuluan: Biomarker untuk melihat terjadinya stress oksidatif akibat proses peroksida lipid yang berlebihan yaitu peningkatan kadar MDA. Untuk menghambat agar stress oksidatif tidak terjadi maka kita harus meningkatkan antioksidan didalam tubuh. Salah satu bahan makanan yang mengandung antioksidan yaitu kitosan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kitosan terhadap kadar Malondialdehid (MDA) pada ovarium tikus yang terpapar timbal asetat (Pb). Metode: Sampel dipilih secara acak sebanyak 25 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) betina Galur Wistar. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari 5 ekor. 4 dari 5 kelompok diberi timbal asetat sebanyak 175 mg/Kg/BB. Kelompok P1, P2 dan diberi kitosan yang dicairkan dengan asam asetat 2% sebanyak 16, 32 dan 64 mg/Kg/BB. Aklimatisasi dilakukan 7 hari, lalu diberi perlakuan selama 30 hari. Tikus di swab vagina. Jika tikus masuk pada fase proestrus maka dilakukan pembedahan untuk mengambil ovarium kanan. Ovarium diperiksa dengan metode spektrofotometri dengan menggunakan Kid MDAANWLSSTM Malondialdehyd Assay, Product NWK-MDA01. Data yang didapat dianalisis menggunakan uji one way ANOVA dan LSD (Least Significant Different). Hasil dan Pembahasan: menunjukkan kelompok perlakuan yang diberikan kitosan berbagai dosis memiliki perbedaan kadar MDA yang berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif. Kesimpulan: Pemberian kitosan dapat memulihkan kadar MDA pada ovarium tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) betina yang terpapar timbal asetat (Pb).

**Kata Kunci: Kitosan, Malondialdehis (MDA), Timbal asetat (Pb)**

## ABSTRACT

**Intoduction:** Biomarker to see the occurrence of oxidative stress due to excessive lipid peroxide process is an increase in MDA levels. To prevent oxidative stress from occurring, we must increase antioxidants in the body. One of the food ingredients that contain antioxidants is chitosan. This study aims to determine the effect of chitosan on levels of malondialdehyde (MDA) in the ovaries of rats exposed to lead acetate (Pb). **Methods:** The sample was randomly selected as many as 25 female Wistar rats (*Rattus norvegicus*). Rats were divided into 5 groups of 5 tails. 4 out of 5 groups were given lead acetate as much as 175 mg/Kg/BW. Groups P1, P2 and were given chitosan diluted with 2% acetic acid as much as 16, 32 and 64 mg/Kg/BW. Acclimatization was carried out for 7 days, then treated for 30 days. Rat in vaginal swab. If the rat entered the proestrus phase, surgery was performed to remove the right ovary. The ovaries were examined by spectrophotometric method using Kid MDAANWLSSTM Malondialdehyd Assay, Product NWK-MDA01. The data obtained were analyzed using one way ANOVA and LSD (Least Significant Different) tests. **Results and Discussion:** showed that the treatment group given various doses of chitosan had different MDA levels that were significantly different from the negative control group. **Conclusion:** Giving chitosan can restore MDA levels in the ovaries of female Wistar (*Rattus norvegicus*) rats exposed to lead acetate (Pb).

**Keywords:** Chitosan, malondialdehis (MDA), lead acetate (Pb)

## PENDAHULUAN

Perkembangan industri semakin hari semakin maju yang diiringi dengan perkembangan teknologi. Perkembangan industri memiliki dampak positif dan negatif bagi manusia. Dampak negatif dari perkembangan adalah meningkatnya pencemaran lingkungan yang terjadi di air, tanah dan udara. Pencemaran industri menghasilkan bahan - bahan yang berbahaya salah satunya adalah timbal asetat (Pb). Zat ini merupakan salah satu logam berat berwarna abu-abu dengan no atom 82, no massa 207,2. Titik didih timbal asetat adalah 174 °C dan titik leleh 328°C. Timbal asetat (Pb) tidak bisa larut atau hancur (*non-degradable*). Tetapi akan terkumpul atau terakumulasi di perairan, udara dan tanah. Timbal asetat akan membentuk senyawa yang komplek pada bahan organic maupun anorganik. Semakin lama makhluk hidup terpapar dengan timbal maka akan semakin meningkat kadar timbal asetat di dalam tubuhnya. Sesuai dengan penelitian yang menyatakan kadar timbal pada ikan mentah dan ikan panggang di pinggir kota Tomohon melebihi batas normal. Hal ini dapat kita kaji

bahwa timbal yang terdapat di air akan terakumulasi pada tubuh ikan yang akan dikonsumsi oleh manusia.

Timbal asetat (Pb) masuk kedalam tubuh dengan berbagai cara baik itu melalui makanan, minuman dan udara lalu di absorpsi di saluran pernafasan sebanyak  $\pm 40\%$ , saluran pencernaan sebanyak  $\pm 5-10\%$ . Menurut Jumlah Timbal asetat (Pb) tersebut akan mengendap pada organ tubuh dan sisinya akan keluar melalui hasil metabolisme yakni feses dan urine. Timbal asetat (Pb) masuk kedalam tubuh melalui mulut yang akan mempengaruhi organ-organ pencernaan, salah satunya lambung. Di lambung makanan dan minuman akan dicerna secara mekanik oleh dinding lambung dan secara kimiawi oleh enzim-enzim pencernaan. Timbal asetat yang masuk kedalam lambung melalui makanan dan minuman akan secara langsung menghambat kerja enzim dan penyerapan mineral didalam tubuh. Timbal akan bereaksi dengan berbagai ion, molekul dan sel di dalam tubuh secara selular yang akan berefek ke otak, darah, ginjal, hati, tulang dan ovarium. Timbal yang berada di dalam intraseluler akan mengikat *gugus sulfhydryl* diantaranya *glutation (GSH)*, *SOD* dan *CAT*

yang merupakan antioksidan aktif yang berfungsi melawan oksidan di dalam tubuh.

Timbal asetat juga akan menyebabkan *ALAD (Aminolevulinic Acid dehydrase)* menurun sehingga *ALA (Aminolevulinic Acid)* meningkat. Jika hal tersebut terjadi maka akan meningkatkan ROS lalu menyebabkan stress oksidatif. Stress oksidatif dapat menyebabkan terjadi *lipid peroxidase, peroksida lipid* dan *nukleid acid oksidasi*. Menurut, biomarker untuk melihat terjadinya stress oksidatif akibat proses *peroksida lipid* yang berlebihan yaitu peningkatan MDA. Salah satu solusi untuk menghambat agar stress oksidatif tidak terjadi maka kita harus meningkatkan antioksidan didalam tubuh. Salah satu bahan makanan yang mengandung antioksidan yaitu kitosan.

Kitosan berasal dari cangkang udang yang sering kali kita buang saat kita makan. Padahal cangkang tersebut mengandung kitosan yang sangat berguna bagi tubuh yang bisa berfungsi sebagai antioksidan. Kitosan merupakan suatu zat bersifat *polielektrolit* yang terdiri dari tiga gugus fungsional yang reaktif. Salah satu gugusnya memiliki fungsi sebagai antioksidan yaitu *gugus amini (NH<sub>2</sub>)* dan *Hidroksil (OH)*. Disaat terjadinya stress oksidatif maka kitosan akan menaktivasi menjadi antioksidan sehingga menghambat terjadinya stress oksidatif. Hal tersebut sesuai dengan penelitian, dimana antioksidan yang berasal dari cangkang udang akan membuat perubahan pada folikel antral (diameter folikel meningkat) dan endometrium (dinding endometrium mengalami penebalan). Tetapi berlawanan dengan penelitian, dikatakan tidak ada aktivasi antioksidan pada kitosan yang dapat menghambat radikal bebas. Begitu juga dengan penelitian, juga menyimpulkan bahwa kitosan yang diberikan pada timbal asetat hanya membuat perubahan ketebalan dinding endometrium tetapi tidak menurunkan kadar MDA yang merupakan biomarker terjadinya stress oksidatif. Ada perbedaan (*gap*) anantara beberapa teori sebelumnya dan ini menjadi penting untuk diuji tentang pengaruh kitosan terhadap penurunan kadar MDA pada organ ovarium

yang telag tepapar timbal.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan *true experiment laboratory* dengan *post test only with control group design*. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Farmakologi FKUB sebagai tempat pemeliharaan tikus dan laboratorium Biomedik FKUB sebagai tempat pemeriksaan kadar MDA. Penelitian ini menggunakan 25 tikus (*Rattus norvegicus*) betina sebagai hewan percobaan. Besaran sampel ini dihitung menggunakan rumus *Replikasi Federer*. Adapun kriteria inklusi yaitu jenis kelamin tikus betina (♀), berusia 9-12 minggu, sehat (aktif, tidak ada cacat pada tubuh dan tidak sedang hamil), warna bulu tikus putih bersih, belum pernah digunakan pada penelitian sebelumnya serta berat badannya antara 100-200 gram. Tikus dipilih secara acak dan dibagi menjadi lima kelompok sama banyak. Setiap kelompok terdiri dari 5 tikus yakni kelompok ke-1 (kontrol negatif), kelompok ke-2 (kontrol positif) dan kelompok ke-3 (perlakuan 1 atau P1), kelompok ke-4 (perlakuan 2 atau P2) dan kelompok ke-5 (Perlakuan 3 atau P3). Kelompok kontrol negatif tidak diberi perlakuan apapun, kelompok kontrol positif, P1, P2 dan P3 diberi timbal asetat sebanyak 175 mg/Kg/BB tetapi ada penambahan pemberian kitosan terhadap P1 sebanyak 16 mg/Kg/BB, P2 sebanyak 32 mg/Kg/BB dan P3 sebanyak 64 mg/Kg/BB. Pemberian kedua bahan ini dilakukan melalui oral (sonde).

Penelitian ini dimulai dari aklimitasi selama 7 hari, lalu diberi perlakuan sesuai dengan kelompok masing-masing selama 30 hari. Setelah diberi perlakuan maka tikus akan di swab vagina untuk melihat masa fase proestrus. Jika tikus tersebut masuk fase proestrus maka akan dilakukan pembedahan. Pembedahan dilakukan untuk mengambil ovarium kanan sebagai bahan penelitian untuk pemeriksaan kadar MDA dengan *spektrofotometri* dengan metode MDA-586 yang menggunakan *Kid MDAANWLSS<sup>TM</sup> Malondialdehyd Assay, Product NWK-*

MDA01.

Setelah semua data didapat maka data akan dianalisis menggunakan *uji one way ANOVA*. Pengujian data menggunakan SPSS dengan tingkat signifikansi  $\alpha = 0,05$ , jika hasil dari pengujian terdapat adanya perbedaan maka akan dianalisis lanjut dengan pengujian *least significant different* atau *LSD*.

## HASIL PENELITIAN

Data penelitian kadar *malondealdehyde/MDA* pada ovarium kanan tikus terdistribusi normal dan homogen. Uji lanjut dengan *Anova One Way* dan *LSD (Least Significant Difference)* dapat dilihat pada tabel 1:

**Tabel 1. Perbandingan Nilai Rerata Kadar MDA Pada Kelima Kelompok**

Kelompok	n	Nilai rerata $\pm$ SD	<i>p-value</i>
Kontrol negatif	5	8.94 $\pm$ 1.65 <sup>c</sup>	
Control positif	5	17.38 $\pm$ 2.22 <sup>a</sup>	
P1	5	14.35 $\pm$ 2.10 <sup>b</sup>	0.000 < 0.005
P2	5	9.84 $\pm$ 1.71 <sup>c</sup>	
P3	5	9.02 $\pm$ 1.60 <sup>c</sup>	

Keterangan: Jika nilai *p-value* > 0.005 artinya tidak ada perbedaan yang signifikan dan jika nilai *p-value* < 0.005 maka terdapat perbedaan yang signifikan, Nilai rerata  $\pm$  SD pada tabel menunjukkan hasil uji *Least Significant difference*

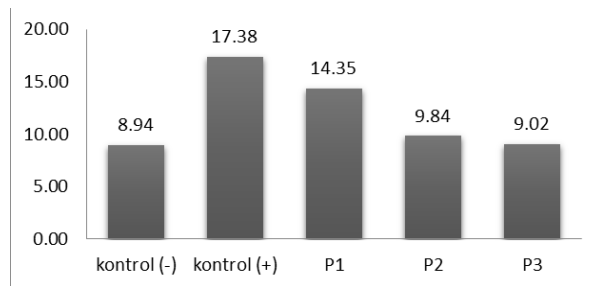
Data analisis menunjukkan nilai *p-value* <  $\alpha$  yakni 0.000 < 0.005 yang berarti bahwa ada perbedaan yang signifikan dari setiap kelompok perlakuan. Menilai adanya perbedaan yang signifikan maka sesuai dengan perbedaan rerata ke-5 kelompok dengan memperhatikan tabel nilai rerata  $\pm$  SD diatas. Perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok P1, dimana nilai rerata  $\pm$  SD pada kelompok kontrol positif (17.38  $\pm$  2.22<sup>a</sup> ng/mL) lebih besar dari pada kelompok P1 (14.35  $\pm$  2.10<sup>b</sup> ng/mL). Pernyataan tersebut menunjukkan bahwa kadar MDA pada kelompok yang

hanya diberi timbal asetat 175 mg/Kg/BB lebih tinggi dari pada kelompok yang diberikan timbal asetat 175 mg/Kg/BB ditambahkan kitosan 16 mg/Kg/BB. Pemberian kitosan 16 mg/Kg/BB dapat menurunkan kadar MDA pada ovarium tikus yang terpapar timbal asetat sebanyak 175 mg/Kg/BB.

Perbandingan nilai rerata  $\pm$  SD pada kelompok kontrol positif (17.38  $\pm$  2.22<sup>a</sup> ng/mL) lebih besar dari pada kelompok P2 (9.84  $\pm$  1.71<sup>c</sup> ng/mL). Hal tersebut menyatakan bahwa kadar MDA pada ovarium tikus yang diberi timbal 175 mg/Kg/BB lebih besar dari pada kelompok yang juga diberi timbal 175 mg/Kg/BB ditambah dengan kitosan 32 mg/Kg/BB. Hal ini berarti bahwa kitosan 32 mg/Kg/BB dapat menurunkan kadar MDA pada ovarium yang terpapar timbal asetat sebanyak 175 mg/Kg/BB.

Data tabel 1 juga menunjukkan bahwa nilai rerata  $\pm$  SD pada kelompok kontrol positif (17.38  $\pm$  2.22<sup>a</sup> ng/mL) lebih besar dari pada kelompok P3 (9.02  $\pm$  1.60<sup>c</sup> ng/mL). Hal tersebut dapat dinilai bahwa kadar MDA pada ovarium tikus yang diberi timbal asetat 175 mg/Kg/BB lebih tinggi dari pada tikus yang terpapar timbal 175 mg/Kg/BB yang ditambah dengan kitosan sebanyak 32 mg/Kg/BB. Hal berarti bahwa kitosan 32 mg/Kg/BB dapat menurunkan kadar MDA pada ovarium tikus.

Pemberian kitosan sebanyak 16, 32 dan 64 mg/Kg/BB dapat menurunkan kadar MDA pada ovarium yang terpapar timbal asetat sebanyak 175 mg/Kg/BB. Jadi hipotesis dapat buktikan bahwa ada pengaruh penurunan kadar MDA pada ovarium tikus setelah terpapar timbal asetat baik itu diberikan kitosan ataupun tidak. Selanjutnya nilai rerata  $\pm$  SD ke lima kelompok perlakuan dibandingkan dengan menggunakan diagram batang, sehingga dapat kita lihat:



**Gambar 1. Perbandingan nilai rerata  $\pm$  SD pada kelima kelompok tikus**

Keterangan: Kelompok Kontrol (-) tidak diberikan apapun; kontrol (+) hanya diberi Pb 175 mg/Kg/BB; P1 (perlakuan 1) diberi 175 mg/Kg/BB + kitosan 16 mg/Kg/BB/hari; P2 (perlakuan 2) diberi 175 mg/Kg/BB + kitosan 32 mg/Kg/BB/hari; P3 (perlakuan 3) diberi 175 mg/Kg/BB + kitosan 64 mg/Kg/BB/hari.

Pada diagram batang dapat kita lihat bahwa nilai rerata  $\pm$  SD tertinggi adalah kelompok kontrol positif dengan nilai rerata  $17.38 \pm 2.22^a$  ng/mL, disusul oleh kelompok P1 dengan nilai rerata  $14.35 \pm 2.10^b$  ng/mL, lalu P2 sebesar  $9.84 \pm 1.71^c$  ng/mL, kelompok P3 sebesar  $9.02 \pm 1.60^c$  ng/mL. Nilai rerata  $\pm$  SD terendah adalah kontrol negatif sebesar  $8.94 \pm 1.65^c$  ng/mL. Nilai rerata perlakuan yang mendekati kontrol negatif adalah kelompok P3 ( $9.84 \pm 1.71^c$  ng/mL).

## PEMBAHASAN

Penelitian ini membuktikan bahwa pemberian kitosan dengan dosis 16, 32 dan 64 mg/Kg/BB yang diberikan secara oral dapat menurunkan kadar MDA pada ovarium yang sudah terpapar 175 mg/Kg/BB timbal asetat. Dosis tertinggi yaitu 64 mg/Kg/BB menunjukkan hasil yang paling baik dalam menurunkan kadar MDA. Semakin tinggi dosis kitosan yang diberikan maka akan semakin rendah kadar MDA. Penurunan kadar MDA bisa diturunkan mendekati kelompok kontrol negatif dengan menggunakan dosis kitosan sebanyak 64 mg/Kg/BB, maka dosis tersebut merupakan dosis ideal dalam memulihkan kondisi kadar

MDA (biomarker stress oksidatif) menjadi normal kembali mendekati kontrol.

Kitosan mengandung antioksidan untuk mencegah terjadinya stres oksidatif. Semakin tinggi kadar MDA pada suatu organ maka semakin tinggi stress oksidatif yang terjadi. Kebutuhan akan antioksidan untuk mencegah terjadinya oksidasi yang diakibatkan adanya radikal bebas sehingga mengikat radikal bebas tersebut menjadi tidak aktif. Ikatan akan melengkapi kekurangan atom pada radikal bebas dan menghambat agar tidak terjadi reaksi rantai kimia pada radikal bebas tersebut. Gugus *amino* ( $\text{NH}_2$ ) dari kitosan akan berikatan dengan timbal asetat (Pb) menjadi  $\text{Pb}(\text{NH}_2)_2$  sehingga menyebabkan timbal asetat bersifat stabil dan mengurangi sifat toksik. Sifat penghambat ini dimiliki kitosan dalam mengurangi dampak stress oksidatif, karena gugus *amino* pada kitosan akan berikatan dengan  $\text{OH}^-$  yang berasal dari oksidasi lipid sehingga membuat molekul menjadi stabil.

## KESIMPULAN

Pemberian kitosan dapat memulihkan kadar MDA pada ovarium tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) betina yang terpapar timbal asetat (Pb).

## SARAN

Diharapkan kepada peneliti selanjutnya dapat menghasilkan Penelitian yang lebih baik lagi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aprilia, D. 2015. Potential of Chitosan as Antioxidative Agent of hepar that induced by plumbum. *Medical Journal of Lampung University*. 4(8): 85-88. <https://juku.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/1479>
- Cakasana, N., Suprijanto, J., Sabdono, A. 2014. Aktivasi kitosan yang diproduksi dari cangkang kerang Simping

- (Amusium sp) dan kerang darah (Anadara sp). *Journal of Marine research*. **3**(4): 395-404  
<https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jmr/article/view/8360>
- Flora, G., Gupta, D., Tiwari, A. 2012. Toxicity of lead : A Review with recent Up dates. *Interdiscip Toxicol*. **5**(2): 47-58.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3485653/>
- Kamilatussaniah., Yuniastuti., Iswari R.S. 2015. Pengaruh suplemen madu kelengkeng terhadap kadar TSA MDA tikus putih yang diinduksi timbal (Pb). *Jurnal MIPA*. **38**(2): 108-104
- Lalandos, M. V., Akili, R., Joseph, W. 2021. Analisis kandungan timbal (Pb) pada ikan yang di jual di pinggir jalan kecamatan Tomohon Utara Kota Tomohon tahun 2021. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. **11**(4): 59-66.  
<https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/kesmas/article/view/41650/36993>
- Palar, Heryando. 2012. Pencemaran dan toksikologi logam berat. Jakarta : Renika Cipta : 74-93
- Purwitasari, A. A., Irawan, D. D., Kalsum, U., Ratnawati, R., Nurdiana, N., & Anita, K. W. (2019). Effect of Chitosan on Histology of Reproductive Organs of Female Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) Exposed to Acetate Lead. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, **30**(4), 259-266.: 259-266.  
<https://jkb.ub.ac.id/index.php/jkb/article/view/2593>
- Rajalakshmia., Krithiga, N., Jayachitra. 2013. Antioxidant activity of the Chitosan Extraced from Shrimp Exoskeleton. *Middle-East Journal of scientific researrch*. **16**(10): 1446-1451.  
<https://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/JM/article/view/5779>
- Riswanda, T., Rachmadiarti, F., Kuntjoro, S. 2014. Pemanfaatan kitosan Udang putih (*Lithopannaeus vannamei*) sebagai bioabsorben logam berat timbal (Pb) pada daging kerang tahu di sungai Gunung Anyar. *Lentera Bio*. **3**(3): 266-271.  
<https://ejournal.unesa.ac.id/index.php/len-terabio/article/view/9626>
- Reische, D. W., Lillard, D. A., Eitenmiller, R. R. Food Lipids: Chemistry Nutrition and biotechnology second edition, Revised and expanded: antioxidants. New York: Marcel Dekker, Inc. 15: 507-535.  
<http://154.68.126.6/library/Food%20Science%20books/batch1/Food%20Lipids%20-%20Chemistry,%20Nutrition%20and%20Biotechnology%20Second%20Edition.pdf>
- Sari, S.R., Baehaki, A., Lestari, S.D. 2013. Aktivasi antioksidan Kompleks kitosan monosakarida. *Jurnal teknik hasil perikanan*. Fakultas pertanian Universitas Sriwijaya Indralaya Ogan Illir VI. **II** No. 1.  
<https://ejournal.unsri.ac.id/index.php/fish-tech/article/view/1104>
- Shofia, V.A., Mahdi, C. 2013. Study pemberian ekstrak rumput laut coklat (*Sargassum Prismaticum*) terhadap kadar Molandialdehid (MDA) dan gambaran Histologi jaringan ginjal pada tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes Militus Tipe I. *Kimia Student Jurnal*. **1**: 119-125.  
<http://kimia.studentjournal.ub.ac.id/index.php/jikub/article/view/148>