

Pengaruh Aktivitas Hepatoprotektor Tepung Kedelai (*Glycine max* L.) terhadap Kadar MDA Hati Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon

Effect of Soyflour (Glycine max L.) Hepatoprotector Activity on Liver MDA Level in Male Wistar Rat Induced by Diazinon

Sofi Aliyatul Himah¹, Desie Dwi Wisudanti², Heni Fatmawati³

¹Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember

²Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember

³Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Jalan Kalimantan No. 37, Jember, Indonesia, 68121

e-mail korespondensi: desie.fk@unej.ac.id

Abstrak

Diazinon dimetabolisme di hati menjadi diazoxon, bentuk metabolit aktif yang dapat menyebabkan meningkatnya radikal bebas sehingga menginduksi terjadinya lipid peroksidasi yang dapat menghasilkan MDA. Tepung kedelai memiliki kandungan isoflavon yang lebih tinggi dibandingkan produk olahan kedelai lainnya. Isoflavon ini akan mendonorkan elektron dan atom hidrogen dalam proses lipid peroksidasi. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh tepung kedelai terhadap peningkatan kadar MDA hati tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok yaitu Kn, K(-) diinduksi diazinon 40mg/kgBB peroral, kelompok K1, K2, dan K3 diberikan tepung kedelai dengan dosis 10%, 15%, dan 20% peroral, kemudian diinduksi diazinon dosis 40mg/kgBB. Pengukuran kadar MDA hepar pada hari ke-34 dengan metode MDA-TBA yang akan menghasilkan warna merah muda yang diukur dengan spektrofotometer. Didapatkan hasil rata-rata Kn 6,35 µg/mL; K(-) 9,23 µg/mL; K1 8,85 µg/mL; K2 7,88 µg/mL; K3 7,04 µg/mL. Hasil uji *one way ANOVA* dan *Post hoc* LSD didapatkan perbedaan signifikan antar semua kelompok ($p < 0,05$). Hasil korelasi *Pearson* menunjukkan hasil negatif dengan derajat korelasi kuat.

Kata kunci: Diazinon, Diazoxon, MDA, Tepung Kedelai, *Glycine max* L., antioksidan

Abstract

Diazinon is metabolized in liver becomes diazoxon, an active metabolite form that can cause free radical raising that leads to lipid peroxidation. The result of lipid peroxidation is MDA. Soyflour has higher isoflavones than the other processed food of Glycine max L. This isoflavones donate its electron and hydrogen atom in lipid peroxidation so it can block the lipid peroxidation. The aim of this experiment is to investigate the effect of soy flour on MDA hepar level increase of male wistar rat induced by diazinon. The sample are divided into 5 groups which are Kn, K(-) group induced by diazinon 40mg/kgBW, K1, K2, K3 group given with soy flour 10%, 15%, and 20% orally, then induced by diazinon 40 mg/kgBW. MDA liver measured on the day 34th with MDA-TBA methode which has pink colour and measured by spektrofotometer. Average of liver MDA levels is Kn 6,35 µg/mL; K(-) 9,23 µg/mL; K1 8,85 µg/mL; K2 7,88 µg/mL; K3 7,04 µg/mL. One way ANOVA and Post hoc LSD showed significantly different ($p < 0,05$). Pearson correlation showed strong negative correlation.

Keywords: Diazinon, Diazoxon, MDA, Soyflour, *Glycine max* L., antioxidant

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara agraris yang kehidupan sehari-harinya tidak lepas dari kegiatan bercocok tanam. Sayuran dan buah-buahan sebagai produk andalan negara agraris ini sering dikaitkan dengan penggunaan pestisida untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas produknya. Pestisida dibagi menjadi 4 golongan, yaitu organoklorin, organofosfat, karbamat, dan piretroid (Hudayya dan Jayanti, 2012). Senyawa organofosfat adalah kelompok pestisida yang paling banyak digunakan di dunia.

Golongan organofosfat yang paling sering digunakan yaitu diazinon. Diazinon umumnya digunakan pada tanaman buah, padi, tebu, jagung, tembakau dan tanaman hortikultura karena sangat efektif memberantas dan membasmi hama-hama tanaman seperti kutu daun, lalat, wereng, kumbang penggerek padi, dan sebagainya (Agustina, 2016). Hal ini terbukti pada telah ditemukannya residu pestisida diazinon pada bawang merah di Alahan Panjang dan Sungai Nanam Kecamatan Lembah Gumati Padang melebihi nilai Batas Maksimum Residu (BMR) yaitu 2,006 mg/kg dan 1,764 mg/kg (Asmita, 2010).

Organofosfat umumnya cepat didekomposisi di lingkungan dan tidak bersifat bioakumulatif, namun memiliki daya racun dan toksisitas yang besar. Berdasarkan hasil penelitian di desa Umbulsari, Kecamatan Umbulsari, Kabupaten Jember didapatkan 27,27% dari seluruh responden petani jeruk penyemprot pestisida golongan organofosfat mengalami gejala keracunan akut seperti pusing, mata berair, dan mual-mual (Aribowo *et al.*, 2016). Organisasi kesehatan dunia (WHO) memperkirakan setiap tahun terjadi 1-5 juta kasus keracunan pestisida pada pekerja pertanian dengan tingkat kematian mencapai 220.000 korban jiwa (Komisi Pestisida, 2014).

Beberapa penelitian menunjukkan diazinon bersifat hepatotoksik pada tikus. Diazinon meningkatkan kadar serum alkalin fosfatase, alanin transaminase, aspartat trasaminase, *gamma glutamyl transferase*, bilirubin total, kreatinin, dan malondialdehid (Al-Attar *et al.*, 2016). Diazinon mengandung radikal bebas yang menyebabkan stres oksidatif dan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid (Oksay, 2012). Peroksidasi lipid merupakan reaksi antara radikal bebas maupun oksidan yang menyerang lipid yang mengandung ikatan karbon ganda yaitu PUFA. Peroksidasi lipid melibatkan pemisahan hidrogen dari rantai karbon yang digantikan oleh oksigen

menjadi *lipid peroxy radicals* dan lipid hidroperoksida (Ayala *et al.*, 2014). PUFA didegradasi oleh radikal-radikal bebas sehingga menghasilkan produk samping yang disebut dengan malondialdehid (MDA). MDA dapat digunakan untuk mengetahui derajat kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh peroksidasi lipid (Retno *et al.*, 2012).

Penggunaan pestisida khususnya jenis diazinon yang bersifat hepatotoksik ini membutuhkan suatu hepatoprotektor untuk mengontrol kerusakan hati yang bersifat progresif. Hepatoprotektor bekerja dengan mencegah adanya ikatan hidroksil yang diakibatkan oleh radikal bebas. Hepatoprotektor dapat ditemukan secara alami pada tumbuhan yang mengandung senyawa antioksidan (Al-Attar *et al.*, 2016). Senyawa antioksidan ini diyakini dapat menetralkan efek negatif radikal bebas pada sel-sel tubuh. Kedelai merupakan bahan penghasil antioksidan alami, salah satu komponen terpenting dalam kedelai dan bertindak sebagai antioksidan adalah isoflavon. Isoflavon merupakan salah satu senyawa yang termasuk golongan flavonoid dan merupakan bagian terbesar dalam golongan tersebut. Isoflavon dalam kedelai berupa genistein, daidzein, dan *glicitein* (Evans *et al.*, 2011). Isoflavon bekerja melalui beberapa mekanisme, yang pertama sebagai *hidrogen atom transfer* (HAT) yaitu dengan mendonorkan atom hidrogen, dan *single electron transfer* (SET) dengan mentransfer elektron untuk mereduksi metal ion, radikal dan *carbonyls*. Mekanisme transfer hidrogen dapat mencegah tahap inisiasi peroksidasi lipid dengan bereaksi dengan lipid radikal atau secara langsung menghambat tahap propagasi peroksidasi lipid dengan bereaksi dengan *peroxy radical* atau radikal *alkoxy radical* (Aytul, 2010).

Kedelai merupakan salah satu produk unggulan Universitas Jember di antara 7 produk lainnya yaitu tebu, kopi, dan singkong. Kedelai dapat diproses menjadi beberapa produk olahan seperti susu, tahu, tempe, dan tepung sehingga lebih aplikatif dan mudah dikonsumsi oleh berbagai lapisan masyarakat. Tepung kedelai ternyata memiliki kandungan isoflavon yang lebih tinggi dibandingkan produk olahan kedelai lainnya, yaitu dengan kandungan rata-rata daidzein sebesar 67,69%, genistein 89,42%, *glicitein* 20,02% (Bhagwat *et al.*, 2008). Pemberian terapi profilaksis dengan diet tepung kedelai dapat mengurangi risiko kerusakan hati akut pada tikus wistar jantan yang diinduksi CCl₄ dengan cara meningkatkan antioksidan intraseluler

seperti GSH, menurunkan level pembentukan MDA, menurunkan level SGOT, dan SGPT hati (Khan, 2012).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian tepung kedelai (*Glycine max* L.) sebagai hepatoprotektor terhadap peningkatan kadar malondialdehid (MDA) pada tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon.

Metode Penelitian

Sampel tepung kedelai

Tepung kedelai (*Glycine max* L.) dalam penelitian ini dibuat menggunakan metode basah yaitu dengan cara kedelai dengan berat 2 kg direndam dalam air dengan perbandingan 2:1 selama 3 jam. Setelah proses perendaman, kedelai ditiriskan, dan dikeringkan di bawah sinar matahari selama 4 jam, kemudian dilanjutkan dengan pengeringan dalam oven dengan suhu 50°C selama 24 jam. Setelah proses pengeringan, dilanjutkan dengan proses penggilingan dan pengayakan dengan menggunakan ayakan 80 mesh. Setelah itu didapatkan tepung kedelai dengan berat bersih 1 kg. Tepung kedelai yang diberikan dengan dosis 10%, 15%, dan 20% untuk kelompok K1, K2 dan K3.

Sampel penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *posttest only control group design*, bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian tepung kedelai terhadap kadar MDA hati pada mencit yang diinduksi isoniazid beserta dosis efektifnya. Penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan dari tim etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Penelitian dilakukan di laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 25 ekor tikus wistar jantan dengan berat 150-200 gram yang diambil secara *simple random sampling*. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok normal (Kn), kelompok kontrol negatif (K(-)), kelompok perlakuan K1, kelompok perlakuan K2, dan kelompok perlakuan K3, Proses induksi diazinon dilakukan selama 5 hari. Kelompok normal diberikan sonde normal saline.

Kelompok kontrol negatif K(-) disondekan normal saline kemudian diinduksi diazinon dengan dosis 40 mg/kgBB pada hari ke 29 selama 5 hari. Kelompok perlakuan K1, K2 dan K3 disondekan tepung kedelai

dengan dosis 10%, 15%, dan 20% selama 28 hari, kemudian diinduksi diazinon dengan dosis 40 mg/kgBB pada hari ke 29 selama 5 hari. Pada hari ke-34 semua sampel diterminasi dengan cara tikus dimasukkan ke dalam toples berisi kapas yang sudah dibasahi oleh eter. Setelah tikus teranestesi dilakukan pembedahan dan pengambilan organ hepar.

Pengukuran kadar MDA

Kadar MDA hati tikus diukur menggunakan pereaksi TBA yang akan membentuk produk MDA-TBA berwarna merah muda dan diukur menggunakan metode spektrofotometri. Organ hati dipotong kecil-kecil lalu dicuci dengan menggunakan PBS. Organ hati yang sudah bersih ditimbang sebanyak 1 gram dan digerus dalam mortar di atas balok es kemudian ditambahkan NaCl 0,9% dingin. Dari masing-masing kelompok setelah dilakukan pembuatan homogenat, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 20 menit, supernatan diambil, dan dipindahkan dalam microtube. Sebanyak 100 µL supernatan hati ditambahkan 550 µL aquades steril, 100 µL TCA, 250 µL HCl 1 M, dan 100 µL Na-Thiobarbiturat. Supernatan dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 100°C selama 20 menit, diangkat, dan dibiarkan dingin pada suhu ruang. Selanjutnya, disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil, dan dipindahkan dalam microtube baru. Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 533 nm. Hasil dinyatakan dengan satuan µg/mL.

Tabel 4.1 Rata-rata kadar MDA hati

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Kadar MDA Hati (µg/mL ± SD) (n=5)
Kn	6,3534 ± 0,755033
K(-)	9,226 ± 1,352479
K1	8,8464 ± 0,331472
K2	7,8836 ± 0,614635
K3	7,0374 ± 0,587869

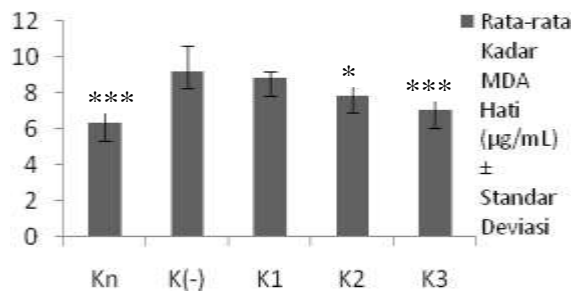
Analisis statistik

Analisis data yang digunakan adalah *oneway ANOVA* untuk mengetahui perbedaan kadar MDA hati antar kelompok ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *Post hoc* yaitu LSD untuk mengetahui kelompok yang berbeda signifikan ($p < 0,05$). Uji korelasi *Pearson* digunakan untuk mengetahui derajat korelasi antara variabel bebas dan variabel terikat.

Hasil Penelitian

Data yang didapat berupa kadar MDA dengan satuan $\mu\text{g/mL}$ seperti tampak pada Tabel 4.1.

Dari data tersebut dapat dilihat bahwa nilai rata-rata kadar MDA hati terkecil yaitu pada kelompok kontrol normal sebesar $6,3534 \mu\text{g/mL}$, sedangkan nilai rata-rata kadar MDA terbesar yaitu kelompok kontrol negatif sebesar $9,226 \mu\text{g/mL}$. Nilai rata-rata kadar MDA hati terkecil di kelompok perlakuan yaitu pada kelompok dengan pemberian tepung kedelai 20% sebesar $7,0374 \mu\text{g/mL}$.



Gambar 1. Histogram hasil rata-rata kadar MDA hati
* $p < 0,05$ terhadap kelompok K(-) dan
*** $p < 0,001$ terhadap kelompok K(-)

Hasil analisis data menunjukkan distribusi data normal, varian data homogen sehingga diuji dengan *One Way Anova* dan hasilnya terdapat perbedaan signifikan antar kelompok, begitu juga dengan *Post hoc LSD* ($p < 0,05$). Hasil uji Korelasi *Pearson* menunjukkan besar korelasi antara kedua variabel tersebut adalah 0,750 atau negatif kuat. Arah korelasi kedua variabel adalah negatif, yaitu 0,750, hal tersebut menunjukkan bahwa korelasi kedua variabel bersifat terbalik, yaitu semakin tinggi konsentrasi tepung kedelai yang diberikan akan semakin rendah kadar MDA hati.

Pembahasan

Penelitian ini masih sangat terbatas karena belum banyak penelitian tentang pengaruh tepung kedelai pada tikus yang diinduksi diazinon. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh tepung kedelai terhadap kadar MDA hati tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon.

Hasil penelitian didapatkan rata-rata kadar MDA hati pada kelompok kontrol normal sebesar $6,3534 \mu\text{g/mL}$. Induksi diazinon 40 mg/kgBB selama 5 hari memperlihatkan adanya peningkatan rata-rata kadar

MDA hati pada kelompok kontrol negatif menjadi $9,226 \mu\text{g/mL}$. Kelompok kontrol normal dan kelompok kontrol negatif menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Terbukti bahwa induksi diazinon dapat menyebabkan peningkatan kadar MDA hati karena diazinon mengandung radikal bebas yang dapat menyebabkan stres oksidatif dan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid.

Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa pemberian diazinon dengan dosis 15 mg/kgBB secara oral selama empat minggu pada tikus dapat menyebabkan peningkatan MDA hati tikus (Lari *et al.*, 2013). Penelitian serupa lainnya menunjukkan bahwa diazinon dapat meningkatkan kadar serum alkalin fosfatase, alanin transaminase, aspartat trasaminase, *gamma glutamyl transferase*, bilirubin total, kreatinin, dan MDA, sehingga menunjukkan adanya perubahan histopatologi dan biokimia hati (Al-Attar *et al.*, 2016). Diazinon diubah menjadi bentuk intermediet aktif diazoxon oleh sitokrom hati P450s melalui pelepasan *sulphur* yang menempel pada fosfor dan insersi atom oksigen (desulfurasi oksidatif) (Abass *et al.*, 2012).

Diazoxon berkonjugasi dengan beberapa enzim di hati yaitu enzim *glutathion S-transferase* (GSTs) sehingga menyebabkan stres oksidatif berupa penurunan *glutathion sulfhydryl* (GSH) intraseluler (Kaur *et al.*, 2017). Akibat penurunan GSH sebagai antioksidan maka radikal bebas seperti radikal hidroksil ($\text{OH}\cdot$), *superoxide anion* radikal ($\text{O}_2\cdot^-$) dan *peroxyl radicals* ($\text{ROO}\cdot$) tidak dapat diikat oleh GSH. Radikal tersebut bereaksi dengan asam lemak tak jenuh ganda pada membran sel hati sehingga menghasilkan peroksidasi lipid yang selanjutnya akan mengubah struktur dan fungsi membran sel berupa meningkatnya permeabilitas membran hingga kerusakan sel (Ayala *et al.*, 2014). Reaksi peroksidasi lipid membran sel hati menghasilkan produk akhir yaitu MDA (Retno *et al.*, 2012).

Pemberian tepung kedelai konsentrasi 10%, 15%, dan 20% menunjukkan penurunan kadar MDA hati tikus. Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, pemberian tepung kedelai konsentrasi 15% dan 20% menunjukkan perbedaan yang signifikan, sedangkan tepung kedelai konsentrasi 10% tidak memberikan pengaruh bermakna terhadap kadar MDA hati tikus. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya tentang pemberian tepung kedelai dengan konsentrasi 10%, 25%, dan 50% selama 14 hari terhadap kadar enzim hati dan profil lipid pada tikus wistar, pemberian tepung kedelai

10% menunjukkan hasil yang tidak signifikan terhadap kadar MDA hati tikus (Anosike *et al.*, 2008).

Pemberian tepung kedelai dengan konsentrasi 15% dan 20% mampu mencegah peningkatan kadar MDA hati tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon secara signifikan. Hasil ini sesuai dengan penelitian lain bahwa diet tepung kedelai dengan konsentrasi 10% dan 15% selama 7 hari dapat mencegah peningkatan kadar MDA tikus wistar jantan yang diinduksi CCl₄ (Khan, 2012). CCl₄ menyebabkan terjadinya penurunan signifikan kadar GSH. GSH merupakan lini pertama pertahanan tubuh terhadap radikal bebas. Pada kelompok yang diberi tepung kedelai kadar GSH dipertahankan dalam jumlah yang cukup.

Diet tepung kedelai dapat mencegah toksisitas yang disebabkan oleh pemberian CCl₄ melalui penurunan pembentukan MDA dan inhibisi level *xanthine* oksidase (XO) pada hati. Pemberian tepung kedelai konsentrasi 20% apabila dibandingkan dengan kelompok Kn memiliki perbedaan yang tidak signifikan, menunjukkan bahwa pemberian tepung kedelai konsentrasi 20% telah mampu menurunkan kadar MDA hati tikus sampai mendekati kadar normal. Pernyataan tersebut didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa pemberian pemberian tepung kedelai dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30% selama 56 hari dapat menurunkan kadar MDA tikus dibandingkan kelompok kontrol normal (Andrade *et al.*, 2013).

Penurunan kadar MDA diduga terjadi karena senyawa isoflavon (golongan flavonoid) pada tepung kedelai mampu mencegah terjadinya peroksidasi lipid. Tepung kedelai memiliki senyawa isoflavon berupa daidzein, *glisitein*, dan genistein yang berperan penting sebagai komponen antioksidan (Evans *et al.*, 2011). Senyawa daidzein dan genistein bekerja melalui beberapa mekanisme, yang pertama sebagai *hidrogen atom transfer* (HAT) yaitu dengan mendonorkan atom hidrogen dan *single electron transfer* (SET) dengan mentransfer elektron untuk mereduksi metal ion, radikal dan *carbonyls*. Mekanisme transfer hidrogen dapat mencegah tahap inisiasi peroksidasi lipid dengan bereaksi dengan lipid radikal atau secara langsung menghambat tahap propagasi peroksidasi lipid dengan bereaksi dengan *peroxyl* radikal atau radikal *akoxyl* sehingga mencegah pembentukan MDA secara berkelanjutan (Aytul, 2010).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pemberian tepung kedelai dapat mencegah peningkatan kadar MDA hati tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon.

Saran ke depan perlu penelitian mengenai pemanfaatan potensi proteksi tepung kedelai terhadap organ hati dengan induksi agen hepatotoksik lainnya dan penelitian dengan durasi yang lebih lama untuk mengetahui efek tepung kedelai pada paparan diazinon kronis.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed. dan dr. Heni Fatmawati, M.Kes., Sp.Rad. atas bimbingan yang diberikan dalam penulisan artikel penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Abass K., M. Turpeinen, A. Rautio, J. Hakkola, dan O. Pelkonen. 2012 Metabolism of pesticides by human cytochrome p450 enzymes in vitro a survey. *Insecticides advances in integrated pest management*. **8** (1): 165–194.
- Agustina, N. 2016. Diazinon. *Makalah*. Jakarta, 30 Mei 2016. 7 hlm.
- Al-Attar, A. M., M. Elnaggar, dan E. Almalki. 2016. Protective effect of some plants oils on diazinon induced hepatorenal toxicity in male rats. *Saudi Journal of Biological Science*. **24** (1): 15-22.
- Andrade, G. F., C. de Almeida, A. Espechit, M. Dantas, L. Benjamin, S. Ribeiro, dan H. Martino. 2013. The addition of soyflour to cafeteria diet reduces metabolic risk markers in wistar rats. *Lipids Health Dis*. **12** (1): 145-174.
- Anosike, C. A., O. Obidoa, dan L. U. S. Ezeanyika. 2008. Beneficial effects of soybean diet on serum marker enzymes, lipid profile, and relative organ weights of wistar rats. *Journal of Nutrition*. **7** (6): 817-822.
- Aribowo, F. P., A. Sujoso, dan R. Hartanti. 2016. Faktor yang berhubungan dengan gejala keracunan akut pestisida organofosfat pada petani jeruk (studi di desa umbulsari kecamatan umbulsari kabupaten Jember).
- Asmita, N. 2010. Dampak Penggunaan Pestisida terhadap Keanekaragaman Arthropoda dan Residunya pada Tanaman Bawang Merah (*Allium cepa* var. *Ascolonicum*) di Kecamatan

- Lembah Gumanti, Sumatera Barat. *Skripsi*. Padang: Fakultas Pertanian Universitas Andalas.
- Ayala, A., M. Muñoz, dan S. Argüelles. 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2 (2): 1-31.
- Aytul, K. K. 2010. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Olive Leaf Extract And its Food Applications. *Tesis*. Turki: graduate school of engineering and sciences of Izmir institute of technology.
- Bhagwat, S., D. Haytowitz, dan J. Holden. 2008. USDA database for the isoflavone content of selected foods. Release 2.0.U. S. *Departement of Agriculture.Agricultural Research Service*.
- Evans, M., J. Elliott, P. Sharma, R. Berman, dan N. Guthrie. 2011. The effect of synthetic genistein on menopause symptom management in healthy postmenopausal women: A multi-center, randomized, placebo-controlled study. *Maturitas*. 68: 189–196.
- Hudayya, A., dan H. Jayanti. 2012. *Pengelompokan Pestisida Berdasarkan Cara Kerja (Mode of Action)*. Bandung: Yayasan Bina Tani Sejahtera.
- Kaur, G., A. Jain, dan S. Singh. 2017. CYP/PON genetic variations as determinant of organophosphate pesticides toxicity. *Centre for Environmental Science and Technology*. 96 (1): 187-201.
- Khan, T. H. 2012. Soy diet diminish oxidativeinjure and early promotional events induced by CCL₄ in rat liver. *International Journal of Pharmacology*. 1: 30-38.
- Komisi Pestisida. 2014. *Pedoman Teknis Kajian Pestisida Terdaftar dan Beredar TA*. 2014. Direktorat Jendral Prasarana dan Sarana Pertanian.
- Lari, P., M. Rashedinia, K. Abnous, dan H. Hosseinzadeh. 2013. Evaluation of diazinon-induced hepatotoxicity and protective effects of crocin. *Toxicology and Industrial Health*. 31 (4): 367-376.
- Oksay, T., M. Naziroglu, O. Ergun, S. Dogan, O. Zatik, A. Armagan, A. Ozorak, dan O. Elik. 2012. N-acetyl cysteine attenuates diazinon exposure-induced oxidative stress in rat testis. *Article in Andrologia*.
- Ozcan, T., A. Bayizit, L. Ersan, dan B. Delikanli. Phenolics in human health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 5 (5): 393-396.
- Retno, T., S. Widyastuti, dan N. Suarsana. 2012. Pengaruh pemberian isoflavin terhadap peroksidasi lipid pada hati tikus normal. *Indonesia Medicus Veterinus*. 1 (4) : 483 – 491.