



UNIVERSITAS INDONESIA

**EFEK SUSU KACANG KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.)
TERHADAP KADAR ASAM URAT DARAH TIKUS PUTIH
JANTAN YANG DIINDUKSI KALIUM OKSONAT**

SKRIPSI

**RIZKI JAKA GUSTIANSYAH
0806398650**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**EFEK SUSU KACANG KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.)
TERHADAP KADAR ASAM URAT DARAH TIKUS PUTIH
JANTAN YANG DIINDUKSI KALIUM OKSONAT**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

**RIZKI JAKA GUSTIANSYAH
0806398650**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2012**

ii

HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 13 Juli 2012



Rizki Jaka Gustiansyah

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Rizki Jaka Gustiansyah

NPM : 0806398650

Tanda Tangan : 

Tanggal : 13 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh:

Nama : Rizki Jaka Gustiansyah
NPM : 0806398650
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Efek Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L.)
Merr.) Terhadap Kadar Asam Urat Darah Tikus
Putih Jantan yang Diinduksi Kalium Oksonat

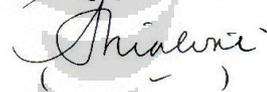
Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dra. Juheini Amin, M.Si., Apt.

()

Pembimbing II : Dra. Azizahwati, M.S., Apt.

()

Penguji I : Dra. Retnosari Andrajati, M.S., Ph.D., Apt.

()

Penguji II : Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., Apt.

()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 13 Juli 2012

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas ridhonya, penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada program di Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulisan skripsi ini tidaklah mudah. Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak maka skripsi ini tidak akan selesai. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

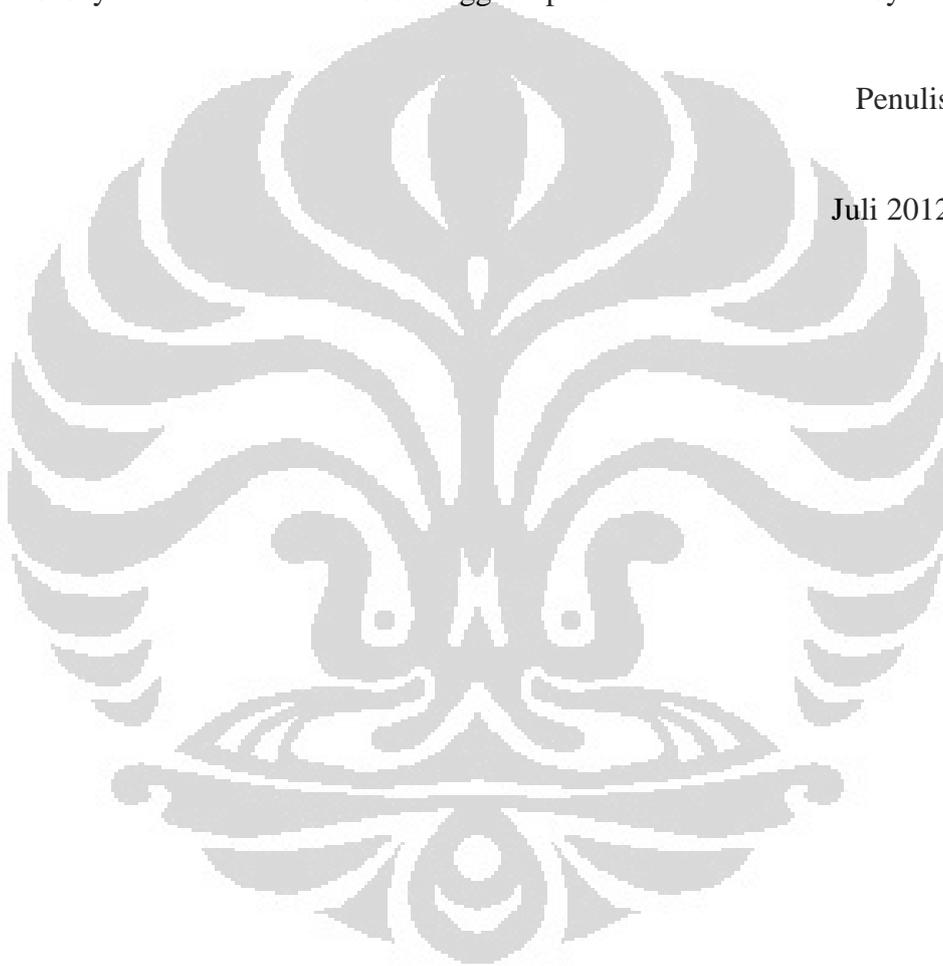
- 1) Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS., Apt., selaku Ketua Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia;
- 2) Dra. Juheini Amin, M.Si., Apt. dan Dra. Azizahwati, MS., Apt. selaku dosen pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, ide, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis serta menginspirasi penulis dalam penelitian dan penyusunan skripsi;
- 3) Drs. Umar Mansyur M.Sc., Apt. dan Dr. Berna Elya M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan nasihat dan bimbingan kepada penulis sejak awal belajar di farmasi;
- 4) Bapak dan Ibu staf pengajar Departemen Farmasi UI atas ilmu pengetahuan dan bantuan yang telah diberikan selama menempuh pendidikan di farmasi. Tak lupa kepada seluruh staf non akademik atas bantuan yang tak terhitung jumlahnya selama penulis di farmasi;
- 5) Mama, papa, dan adik-adikku sekalian atas dukungan dan doa kalian semua. Tak lupa juga kepada Emak dan Bapak atas doa dan inspirasi kehidupan yang selalu dibagikan kepada penulis;
- 6) Seluruh rekan-rekan, terutama rekan-rekan penelitian kelompok bidang ilmu (KBI) Farmakologi Eksperimen yang selalu kompak dan bahu-membahu. Tak lupa juga rekan-rekan Farmasi UI atas hubungan kekeluargaan yang telah terbina, terutama angkatan 2008;

- 7) Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah membantu proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis berharap semoga Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan dari semua pihak yang telah membantu. Penulis menyadari bahwa penelitian dan penyusunan skripsi ini masih belum sempurna. Penulis menerima semua kritik dan saran yang membangun bagi penelitian dan penyusunan skripsi ini. Besar harapan semoga penulisan skripsi ini dapat berguna bagi ilmu pengetahuan khususnya untuk ilmu farmasi sehingga dapat bermanfaat untuk masyarakat luas.

Penulis

Juli 2012



HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rizki Jaka Gustiansyah
NPM : 0806398650
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Efek Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) Terhadap Kadar Asam Urat Darah Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Kalsium Oksonat

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 13 Juli 2012
Yang menyatakan



(Rizki Jaka Gustiansyah)

ABSTRAK

Nama : Rizki Jaka Gustiansyah
Program Studi : Farmasi
Judul : Efek Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) Terhadap Kadar Asam Urat Darah Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Kalium Oksonat

Dalam dunia pengobatan, bahan alam dapat digunakan sebagai upaya preventif, promotif, maupun rehabilitatif. Diduga, kandungan isoflavon dalam susu kacang kedelai sebagai senyawa yang berkhasiat untuk menurunkan kadar asam urat. Tujuan penelitian ini adalah membuktikan secara ilmiah efek pemberian susu kacang kedelai terhadap kadar asam urat darah tikus putih jantan yang dibuat hiperurisemia dengan kalium oksonat. Sejumlah 30 ekor tikus putih jantan *Sprague-Dawley* dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol normal dan perlakuan yang diberi larutan CMC 0,5% 3 mL/200 g bb tikus, kelompok pembandingan yang diberi suspensi alopurinol 36 mg/200 g bb tikus, serta tiga kelompok bahan uji yang diberi susu kacang kedelai dengan dosis 1, 2, 3 berturut-turut yaitu 2,25 g, 4,5 g, dan 9 g kacang kedelai/200 g bb tikus/hari. Semua kelompok, kecuali kelompok kontrol normal, diinduksi kalium oksonat 50 mg/200 g bb tikus secara intraperitoneal. Pengambilan sampel darah pada hari ke delapan dilakukan 2 jam setelah induksi. Pengukuran kadar asam urat dalam plasma dilakukan dengan metode kolorimetri enzimatik dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa susu kacang kedelai 2,25 g/hari dapat menurunkan kadar asam urat tikus ($p < 0,05$) dengan efektivitas sebesar 25,58%.

Kata Kunci : alopurinol, asam urat, kalium oksonat, kolorimetri enzimatik, susu kacang kedelai
xiv + 58 halaman ; 10 gambar; 4 tabel; 15 lampiran
Daftar Acuan : 46 (1963-2011)

ABSTRACT

Nama : Rizki Jaka Gustiansyah
Program Study : Pharmacy
Title : The Effect of Soy Milk (*Glycine max* (L.) Merr.) on Blood Uric Acid Levels of Male White Rats Induced by Potassium Oxonate

In therapeutics world, natural materials can be used as a preventive, promotive, and rehabilitative. Presumably, the content of isoflavones in soy milk as a nutritious compounds for lowering uric acid levels. The purpose of this study is to prove scientifically the effect of giving soy milk on blood uric acid levels of male white rats which made hyperuricemia by potassium oxonate. A number of 30 *Sprague-Dawley* male white rats were divided into 6 groups: normal control group and treatment control group were given 3 mL/200 g body weight (bw) of 0,5% CMC solution, a comparison group who were given 36 mg/200 g bw of rat of allopurinol's suspension, and the three groups of test substance fed soy milk with a dose of 1, 2, 3 in a row 2,25 g, 4,5 g, and 9 g of soybean/200 g bw of rat/day. All groups, except the normal control group, induced by potassium oxonate 50 mg/200 g bw of rat via intraperitoneal. Blood sampling was performed on the eighth day 2 hours after induction. Measurement of plasma levels of uric acid was done with the enzymatic colorimetric method performed with a spectrophotometer UV-Vis at 520 nm wavelength. The results showed that soy milk 2,25 g/day can reduce uric acid levels of rats ($p < 0,05$) with the effectiveness of 25,58%.

Key Words : allopurinol, enzymatic colorimetric, potassium oxonate, soy milk, uric acid
xiv + 58 pages ; 10 pictures; 4 tables; 15 apendixes
Bibliography : 46 (1963-2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah dan Ruang Lingkup Penelitian.....	3
1.3 Jenis dan Metode Penelitian.....	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Hipotesis.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Kedelai.....	4
2.2 Asam Urat	7
2.3 Kalium Oksonat	16
3. METODE PENELITIAN.....	17
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	17
3.2 Alat	17
3.3 Bahan.....	17
3.4 Hewan Uji.....	17
3.5 Prosedur Pelaksanaan	18
3.6 Pelaksanaan Percobaan.....	20
3.7 Analisis Data.....	23
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1 Tinjauan Umum.....	24
4.2 Penetapan Dosis Susu Kacang Kedelai	25
4.3 Uji Khasiat	25
5. KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Kesimpulan.....	39
5.2 Saran	39
DAFTAR ACUAN.....	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tanaman Kedelai (<i>Glycine max</i> (L.) Merr.).....	5
Gambar 2.2	Proses Degradasi Purin Menjadi Asam Urat.....	9
Gambar 4.1	Kacang Kedelai sebagai Bahan Dasar Pembuatan Susu Kacang Kedelai.....	24
Gambar 4.2	Susu Kacang Kedelai dengan Tiga Macam Konsentrasi.....	25
Gambar 4.3	Umus Bangun Alopurinol.....	28
Gambar 4.4	Empel Plasma yang Direaksikan dengan Reagen Kit Membentuk Kuinonimin.....	30
Gambar 4.5	Efektifitas Kadar Asam Urat Rata-rata Semua Kelompok setelah Delapan Hari Perlakuan.....	32
Gambar 4.6	Efektifitas Penurunan Kadar Asam Urat Rata-rata Kelompok Bahan Uji dan Kelompok Pembanding (Alopurinol) Terhadap Kelompok Kontrol Normal.....	33
Gambar 4.7	Efektifitas Efektivitas Penurunan Kadar Asam Urat Rata-rata Kelompok Bahan Uji Terhadap Kelompok Pembanding (Alopurinol).....	34
Gambar 4.8	Mekanisme Pembentukan Superoksida dan Asam Urat dari Daidzein, Genistein, dan Glisitein.....	37

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Rincian Perlakuan Setiap Kelompok Uji Selama Delapan Hari.....	21
Tabel 4.1	Kadar Asam Urat Uji Pendahuluan Kalium Oksonat.....	27
Tabel 4.2	Data Kadar Asam Urat Semua Kelompok Uji pada Hari Kedelapan.....	31
Tabel 4.3	Intepretasi Data Hasil Pengolahan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).....	35
Tabel 4.4	Nilai Penghambatan Pembentukan Superoksida dan Asam Urat pada Daidzein, Genistein, dan Glisitein serta pada Alopurinol.....	37



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Konversi dan Perhitungan Dosis Susu Kacang Kedelai.....	44
Lampiran 2	Konversi Dosis dan Pembuatan Sediaan Suspensi Alopurinol.....	45
Lampiran 3	Konversi Dosis dan Pembuatan Sediaan Suspensi Kalium Oksonat.....	46
Lampiran 4	Kandungan Pereaksi Asam Urat (Randox).....	47
Lampiran 5	Perhitungan Penurunan Kadar Asam Urat Rata-rata Kelompok Bahan Uji dan Kelompok Pembanding (Alopurinol) Terhadap Kelompok Kontrol Normal.....	48
Lampiran 6	Perhitungan Efektivitas Penurunan Kadar Asam Urat Kelompok Dosis Terhadap Pembanding Alopurinol.....	49
Lampiran 7	Uji Normalitas (Uji <i>Saphiro-Wilk</i>) Terhadap Data Kadar Asam Urat Plasma Tikus.....	50
Lampiran 8	Uji Homogenitas (Uji <i>Levene</i>) Terhadap Data Kadar Asam Urat Plasma Tikus.....	51
Lampiran 9	Uji ANOVA (Analisis Varian Satu Arah) Terhadap Data Kadar Asam Urat Plasma Tikus.....	52
Lampiran 10	Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Antar Seluruh Kelompok Uji.....	53
Lampiran 11	Sertifikat Analisis Kalium Oksonat.....	54
Lampiran 12	Sertifikat Analisis Alopurinol.....	55
Lampiran 13	Surat Keterangan Hewan Uji.....	56
Lampiran 14	Surat Determinasi Tanaman Kedelai.....	57
Lampiran 15	Data Serapan Sampel pada Uji Sebenarnya.....	58

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bahan alam, dalam dunia pengobatan, dipakai baik dalam upaya preventif, promotif, maupun rehabilitatif. Penggunaan bahan alam, baik sebagai obat maupun tujuan lain cenderung meningkat dewasa ini. Semangat *back to nature* yang sering digemakan serta krisis ekonomi yang berkepanjangan menjadi alasan untuk meningkatkan penggunaan bahan alam (Harsini, 2008).

Salah satu khasiat dari penggunaan bahan alam yang menjadi perhatian adalah efek sediaan herbal dalam menurunkan kadar asam urat darah. Pada manusia, asam urat merupakan produk akhir dari degradasi purin dan tidak memiliki fungsi fisiologis sehingga keberadaannya dalam tubuh hanya sebagai produk buangan (Hawkins & Rahn, 2005).

Kadar asam urat darah yang meningkat di atas normal disebut hiperurisemia. Keadaan ini ditandai dengan peningkatan kadar asam urat dalam darah melebihi 6,8 mg/dL pada pria dan 6,0 mg/dL pada wanita yang dapat disebabkan karena peningkatan produksi atau penurunan ekskresi asam urat (Hawkins & Rahn, 2005).

Hiperurisemia dapat menyebabkan keadaan patologis berupa reaksi peradangan akibat penimbunan kristal mononatrium urat (MSU) pada jaringan lunak dan persendian, yang disebut tofi. Penimbunan ini terjadi akibat kadar asam urat darah melewati batas kelarutannya (Ernst & Clark, 2009). Pasien yang mengalami kondisi ini merasakan nyeri dengan berbagai variasi tingkat keparahan. Oleh karena itu diperlukan penanganan yang tepat agar kualitas hidup pasien membaik.

Pengobatan menggunakan alopurinol telah banyak digunakan untuk menurunkan kadar asam urat darah yang tinggi karena merupakan agen penurun asam urat yang paling efektif (Ernst & Clark, 2009). Penggunaan alopurinol akan menimbulkan efek samping jangka panjang, seperti nefropati dan kerusakan hati (Martindale, 2009). Selain itu, alopurinol juga menyebabkan reaksi alergi, kemerahan pada kulit, dan kadang-kadang gangguan pada saluran pencernaan dalam jangka pendek (Wilmana, 2007).

Berdasarkan data efek samping baik penggunaan jangka pendek maupun jangka panjang dari alopurinol maka masyarakat mencari pengobatan alternatif yang memiliki tingkat keamanan yang lebih tinggi untuk mengatasi kondisi hiperurisemia tersebut. Pemanfaatan kacang kedelai dalam bentuk sediaan susu merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi kondisi hiperurisemia. Hal ini disebabkan karena susu kacang kedelai dipercaya mampu menurunkan kadar asam urat darah secara empiris oleh masyarakat (Azis, 2009). Diduga, kandungan isoflavon yang terdapat di dalam susu kacang kedelai yang berperan dalam menurunkan kadar asam urat darah.

Isoflavon termasuk golongan senyawa flavonoid yang banyak terdapat pada tanaman kacang-kacangan, termasuk kedelai. Secara umum, isoflavon ditemukan pada kacang kedelai dan produk olahannya dalam bentuk glikosidanya, yaitu bentuk inaktif dari isoflavon, sebanyak 80% - 95% dari konsentrasi total yang terkandung dalam kacang kedelai (Saidu, 2005).

Senyawa-senyawa yang termasuk golongan flavonoid, termasuk isoflavon, pada umumnya, memiliki sifat sebagai antioksidan. Senyawa-senyawa yang termasuk golongan flavonoid dapat memberikan kontribusi sebagai penurun tingkat oksidatif melalui inhibisi enzim terkait (Van Hoorn et al., 2002) diantaranya inhibisi kerja xantin oksidase.

Terdapat pengaruh xantin oksidase dalam menghasilkan asam urat pada proses degradasi purin. Enzim ini mengatalisis perubahan hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat (Katzung, Masters, & Trevor, 2006). Isoflavon, sebagai subkelas dari flavonoid, diduga sebagai senyawa yang berperan dalam menghambat kerja dari xantin oksidase secara kompetitif sehingga pembentukan asam urat menjadi terhambat dan mampu berperan mengatasi kondisi hiperurisemia.

Susu kacang kedelai merupakan produk dari hasil pengolahan kacang kedelai yang bergizi tinggi yang dapat dijadikan sebagai alternatif terbaik pengganti susu formula (*National Agricultural Library: Nutrient Data Lab*, 2011). Susu kacang kedelai dapat dibuat dengan dipisahkan antara kacang kedelai dan kulit ari kemudian kacang kedelai tersebut direbus, digiling dengan menggunakan *blender*, dan terakhir disaring (Jumadi, 2009). Dengan kandungan isoflavon yang

terdapat di dalam susu kacang kedelai, diharapkan mampu mengatasi kondisi hiperurisemia yang dialami oleh seseorang.

Berdasarkan uraian di atas, diperlukan penelitian mengenai efek pemberian susu kacang kedelai terhadap kadar asam urat tikus putih jantan yang dibuat hiperurisemia. Pengukuran kadar asam urat hewan uji dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri enzimatis. Sampel plasma yang sudah dicampur dengan reagen kit dan sudah diinkubasi kemudian diukur serapannya secara spektrofotometri. Percobaan ini dilakukan dengan menggunakan variasi dosis dari sediaan susu kedelai. Hal ini bertujuan untuk memperoleh dosis optimal pemberian susu kacang kedelai dalam mengatasi kondisi hiperurisemia.

1.2 Rumusan Masalah dan Ruang Lingkup Penelitian

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah pemberian susu kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) dapat berefek terhadap kadar asam urat darah tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat. Ruang lingkup penelitian ini mencakup bidang ilmu Farmakologi.

1.3 Jenis dan Metode Penelitian

Penelitian bersifat eksperimental menggunakan ekstrak tanaman yang diujikan pada hewan coba model hiperurisemia.

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek pemberian susu kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap kadar asam urat darah tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat.

1.5 Hipotesis

Kandungan isoflavon yang terdapat di dalam susu kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) mempunyai efek menurunkan kadar asam urat darah tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.)

2.1.1 Klasifikasi dan Tata Nama (Plowden, 1972)

2.1.1.1 Klasifikasi

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatopyhta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Polypetales
Suku	: Leguminos
Subsuku	: Papilionoidae
Marga	: <i>Glycine</i>
Jenis	: <i>Glycine max</i> (L.) Merr.

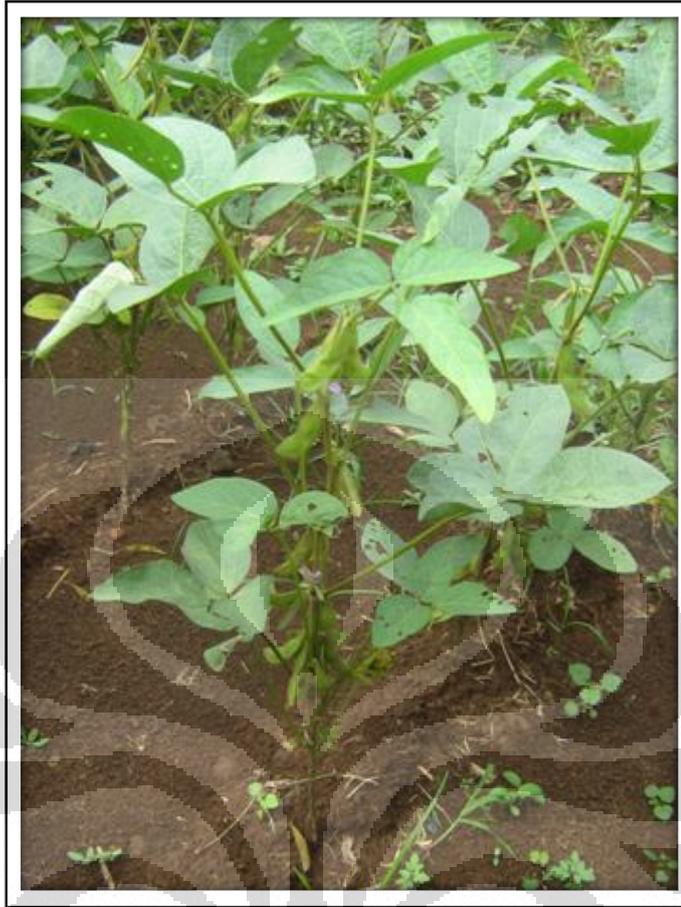
2.1.1.2 Nama Daerah

Tanaman ini dikenal dengan berbagai nama daerah, antara lain yaitu kedele, kacang gimbol, kacang bulu, kacang ramang, retak mejong, kaceng bulu, kacang jepun, dekeman, dekenana, demekun, dele, kadele, kadang jepun, lebuwi bawak, lawui, sarupapa titak, dole, kadule, puwe mon, dan gadelei (Pitojo, 2003).

2.1.2 Deskripsi

Tanaman kedelai merupakan tumbuhan terana, semusim, dan tumbuh tegak, dengan tinggi 0,2 – 1,5 m. Akarnya bercabang lebat dan berbintil. Batang tanaman ini memiliki rambut kecoklatan atau kelabu yang terdapat disekelilingnya (Sutarno, 1993).

Tanaman kedelai berdaun majemuk dengan jumlah anak daun sebanyak tiga helai. Anak daun berbentuk oval atau memanjang, bertepi rata, dengan kedua sisinya berambut. Ukuran daun tanaman kedelai 3 – 15 cm × 2 – 7,5 cm. Tanaman kedelai memiliki bunga yang kecil yang berwarna ungu atau putih. Penyerbukan bunga tanaman kedelai bersifat kleistogami (Sutarno, 1993).



Gambar 2.1. Tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.)

Bunga tanaman kedelai dalam berkas atau tandan dengan panjang berkas tersebut 3 cm. Panjang tangkai bunganya yaitu 0,5 – 2 cm. Panjang kelopak bunga dari tanaman kedelai yaitu 5 – 7 mm. Benang sari tanaman ini bersifat mudah lepas dan bakal buahnya berambut rapat (Sutarno, 1993; Steenis, Den Hoed, Bloembergen, & Eyma, 1975).

Biji, atau yang dikenal sebagai kacang, tanaman kedelai ini terdapat di dalam polong. Setiap polong berisi 1 – 4 biji. Pada saat masih muda, biji berukuran kecil, berwarna putih kehijauan, dan lunak. Pada perkembangan selanjutnya biji semakin berisi, mencapai berat maksimal, dan keras. Biji kedelai berkeping dua dan terbungkus oleh kulit tipis. Pada umumnya, biji berbentuk bulat lonjong, namun ada juga yang berbentuk bundar atau bulat agak pipih dan kulit biji berwarna kuning, hitam, hijau, atau cokelat (Pitojo, 2003).

Tanaman kedelai dapat tumbuh di ketinggian mulai dari 0 m di atas permukaan laut (dpl) sampai 3000 m dpl. Pada kondisi air cukup tersedia, tanaman kedelai dapat ditanam sepanjang tahun di daerah tropik dan subtropik. Tanaman kedelai peka terhadap pH rendah dan pertumbuhan tanaman ini optimal pada pH 6,0 – 6,5 (Sutarno, 1993).

2.1.3 Kandungan Kimia Kacang Kedelai

Setiap 100 g bagian kering dari kacang kedelai mengandung 39,58 g protein, 21,62 g lemak, 32,72 g karbohidrat dan 8,1 g serat (*National Agricultural Library: Nutrient Data Lab*, 2011). Flavonoid, yang dalam hal ini berupa isoflavon, banyak ditemukan dalam kacang kedelai. Genistin, daidzin, dan glisitin serta turunan malonil dan asetil dari aglikon-aglikonnya merupakan komponen penyusun isoflavon terbanyak dalam kacang kedelai. (Saidu, 2005).

Selain itu, kedelai juga mengandung minyak, yang tersusun atas asam lemak berupa linoleat (50%), oleat (35%), linolenat (6%), palmitat (6%), dan stearat (4%) serta sterol, berupa stigmasterol dan β -sitosterol (Daniel, 1995).

2.1.4 Kegunaan dan Khasiat Tanaman Kedelai

Banyak sekali kegunaan tanaman kedelai di bidang kesehatan, dari bagian kacang, kulit kacang, serta daunnya, yang digunakan atas dasar khasiatnya secara empiris. Kacang kedelai digunakan dalam pengobatan edema, beri-beri, jaundis, rematik, pruritus, keracunan, insomnia, batuk, serta untuk mengobati demam dan sakit kepala yang disebabkan oleh flu. Daun dari tanaman kedelai digunakan sebagai penangkal racun apabila tergigit ular. Kulit kacang kedelai digunakan untuk mengobati sakit kepala (But, 1998).

Selain berdasarkan empiris, kacang kedelai secara klinik juga memiliki khasiat untuk berbagai kondisi, diantaranya sebagai pencegahan terhadap kondisi osteoporosis dan penyakit kardiovaskular, membantu regulasi metabolisme lemak, serta memperbaiki proses koagulasi darah (Palaniswamy, 2008). Selain itu, kedelai juga berkhasiat sebagai antidiabetes dan antikanker. Khasiat-khasiat di atas sudah diuji secara preklinik dan beberapa sudah diuji sampai tingkat klinik (Khushk, Dahot, Baloach, dan Bhutto, 2010; Koswara, 2006).

2.1.5 Pemanfaatan Kedelai

Tepung kedelai, susu, tahu, tempe, miso, kecap, dan tauco merupakan hasil dari pengolahan kacang kedelai. Minyak yang didapatkan dari hasil ekstraksi kacang kedelai digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan beberapa produk, seperti margarin, minyak salad, dan minyak goreng (Palaniswamy, 2008; Sutarno, 1993).

Kacang kedelai dapat diolah menjadi produk susu yang bergizi tinggi dan mengandung banyak manfaat serta dapat dijadikan sebagai pengganti susu sapi. Susu kacang kedelai juga dapat dijadikan alternatif terbaik pengganti susu formula karena kandungan gizinya. Kandungan dan manfaat yang terdapat dalam susu kacang kedelai adalah protein, lemak nabati, karbohidrat, serat, vitamin A, B1, B2, E, serta kaya akan mineral (*National Agricultural Library: Nutrient Data Lab*, 2011).

2.2 Asam Urat

Nama IUPAC dari asam urat yaitu 7,9-dihidro-1H-purin-2,6,8(3H)-trion atau dengan nama lain 2,6,8-trioksiapurina. Asam urat memiliki rumus molekul $C_5H_4N_4O_3$ dengan berat molekul yaitu 168,11 g/mol. Asam urat bersifat asam lemah, sangat sukar larut dalam air, dan mampu mengalami dekomposisi dengan pemanasan (The Merck Index, 2001).

Walaupun natrium urat lebih mudah larut dalam air bila dibandingkan dengan asam urat, namun kelarutan garam tersebut memiliki batas tertentu dalam darah. Apabila konsentrasi garam tersebut mencapai titik jenuh maka akan terjadi peristiwa pengendapan natrium urat secara cepat membentuk kristal mononatrium urat (MSU) yang kemudian akan tertimbun pada lokasi tertentu dalam tubuh seseorang (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003).

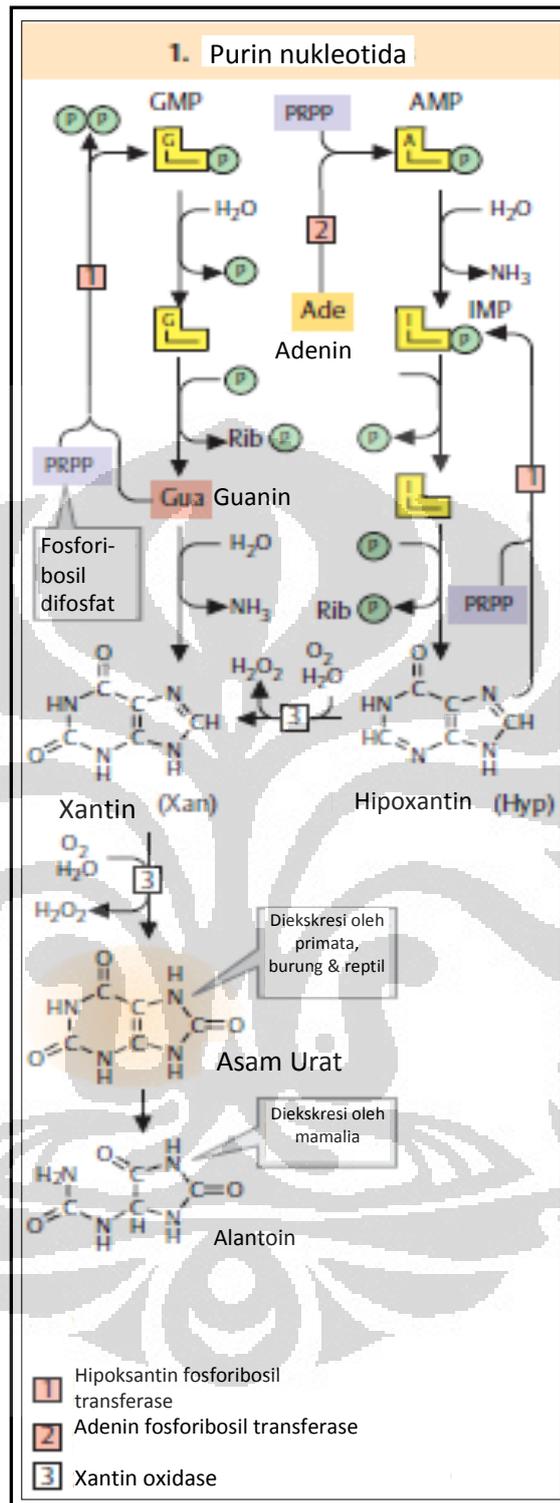
Di dalam tubuh manusia, nukleosida purin (adenosin dan guanosin) diubah menjadi asam urat. Sebelumnya, nukleosida-nukleosida tersebut berasal dari bentuk nukleotidanya yang oleh fosfomonoesterase mengalami pelepasan satu gugus fosfat. Adenosin akan mengalami deaminasi oleh adenosin deaminase membentuk inosin. Kemudian terjadi peristiwa fosforilasi ikatan N-glikosidat dari inosin dan guanosin membentuk hipoxantin dan guanin. Pada peristiwa tersebut

terjadi pelepasan senyawa ribosa 1-fosfat dan basa purin yang dikatalisis oleh purin fosforilase. Selanjutnya, terjadi proses pembentukan senyawa xantin dari hipoxantin yang dikatalisis oleh xantin oksidase dan guanin yang dikatalisis oleh guanase. Xantin yang terbentuk akan teroksidasi menjadi asam urat dalam reaksi yang juga dikatalisis oleh xantin oksidase (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003). Gambar degradasi purin menjadi asam urat ditunjukkan oleh Gambar 2.2.

Pada mamalia selain primata, asam urat diubah menjadi allantoin oleh urikase. Allantoin sangat larut di dalam plasma darah sehingga mudah diekskresi. Dengan demikian, kecil kemungkinan terjadinya akumulasi asam urat di jaringan lunak dan persendian. Tetapi, manusia dan beberapa jenis hewan (amfibi, burung, dan reptil) tidak memiliki urikase sehingga asam urat merupakan produk akhir dari katabolisme purin (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003).

Asam urat ada yang bersifat eksogen maupun endogen. Asam urat eksogen berasal dari purin yang masuk ke dalam tubuh yang terdapat di dalam makanan yang dikonsumsi. Asam urat endogen berasal dari oksidasi purin yang mengalami degradasi yang terbentuk melalui biosintesis purin secara *de novo* (Hawkins & Rahn, 2005).

Asam urat tidak diakumulasi di dalam tubuh selama produksinya seimbang dengan eliminasinya. Asam urat dieliminasi dari dalam tubuh melalui dua jalan, yaitu sekitar duapertiga dari total asam urat di dalam tubuh diekskresi melalui urin dan sisanya dieleminasi melalui saluran pencernaan setelah mengalami degradasi secara enzimatik oleh koloni bakteri usus. (Hawkins & Rahn, 2005). Salah satu faktor penyebab meningkatnya kadar asam urat dalam darah adalah karena meningkatnya produksi asam urat.



[sumber: Koolman dan Roehm, 2005, telah diolah kembali]

Gambar 2.2 Proses degradasi purin menjadi asam urat

2.2.1 Hiperurisemia

Peningkatan kadar asam urat darah hingga melebihi 6,8 mg/dL pada pria dan 6,0 mg/dL pada wanita dikatakan sebagai kondisi hiperurisemia (Hawkins & Rahn, 2005). Kadar asam urat darah dikatakan normal jika nilainya sebesar $5,1 \pm 1,0$ mg/dL pada pria dan $4,0 \pm 1,0$ mg/dL pada wanita (Carter, 2005). Hal ini bisa terjadi karena peningkatan metabolisme asam urat (*overproduction*), penurunan pengeluaran asam urat (*underexcretion*), atau gabungan keduanya. Hiperurisemia yang berkepanjangan dapat menyebabkan gout atau pirai, namun tidak semua hiperurisemia akan menimbulkan kelainan patologi berupa gout (Putra, 2007).

Menurut Shumacher Jr (1992) dan Kelley & Wortmann (1997), penyebab hiperurisemia dapat dibedakan menjadi hiperurisemia primer, sekunder, dan idiopatik. Hiperurisemia primer adalah hiperurisemia tanpa disebabkan karena penyakit atau penyebab lain. Hiperurisemia sekunder adalah hiperurisemia yang disebabkan penyakit lain atau penyebab lain. Hiperurisemia idiopatik adalah hiperurisemia yang penyebab primernya tidak jelas, bisa karena kelainan genetik, serta tidak ada kelainan fisiologis atau anatomi yang jelas (Putra, 2007).

Rata-rata manusia memproduksi 600 – 800 mg asam urat setiap hari dan mengekskresikan 400 – 600 mg per hari (Hawkins & Rahn, 2005). Meningkatnya asupan makanan yang tinggi kandungan purin di dalamnya mampu menjadi salah satu faktor yang mendukung meningkatnya produksi asam urat. Contoh makanan yang mengandung purin dalam jumlah tinggi – sedang yaitu hati, ginjal, usus, paru-paru, babat, makanan kaleng, bayam, gandum, asparagus, kembang kol, dan jamur (Choi, Atkinson, Karlson, Willet, & Curhan, 2004).

Selain makanan, beberapa minuman juga dapat menjadi faktor pemicu meningkatnya kadar asam urat darah. Oleh karena xantin merupakan zat awal dari asam urat sebelum mengalami peristiwa oksidasi maka minuman yang mengandung alkaloida turunan purin (xantin), misalnya kafein (kopi, teh, dan *cola*) yang mengandung juga dapat menjadi faktor pemicu meningkatnya kadar asam urat darah. Jika kadar xantin dalam darah cukup tinggi maka mampu memicu terbentuknya asam urat yang lebih banyak karena kerja dari xantin oksidase (Carter, 2005).

Asam urat yang meningkat akibat ekskresi atau pembuangannya terganggu terjadi bila seseorang mengalami kelainan ginjal. Umumnya karena penurunan proses ekskresi di tubulus ginjal atau peningkatan reabsorpsi di tubulus ginjal (Hawkins & Rahn, 2005).

Hiperurisemia dapat bersifat asimtomatik dan dapat pula berkembang kemudian menimbulkan keadaan patologis seperti artritis gout akut dan gout kronik. Keadaan patologis ini baru muncul ketika sudah terdapat penimbunan kristal mononatrium urat (MSU) pada jaringan lunak dan persendian yang disebut tofi sehingga reaksi peradangan terjadi. Hal ini disebabkan karena konsentrasi garam tersebut sudah melewati batas kelarutannya di dalam tubuh seseorang (Hawkins & Rahn, 2005; Wall, 2008; Ernst & Clark, 2009). Kadar serum asam urat sebaiknya selalu dipantau untuk melihat perkembangan dari kondisi gout seseorang. Hal ini beralasan karena risiko seseorang menderita gout berbanding lurus dengan peningkatan kadar serum asam urat (Ernst & Clark, 2009).

2.2.2 Gout

Penyakit gout merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan penumpukan asam urat yang berlebihan. Hal ini diakibatkan karena peningkatan metabolisme asam urat (*overproduction*), penurunan pengeluaran asam urat (*underexcretion*), ataupun karena peningkatan asupan makanan kaya purin. Penyakit gout merupakan kondisi lanjutan dari hiperurisemia yang menghasilkan kelainan patologis (Putra, 2007).

Berdasarkan penelitian, risiko gout dapat meningkat akibat konsumsi daging atau seafood dalam jumlah banyak (Choi, Atkinson, Karlson, Willet, & Curhan, 2004; Putra, 2007). Penumpukan asam urat bisa ditemukan di jaringan lunak dan persendian. Penyakit gout sering ditemukan pada pria dewasa dan wanita sesudah menopause (Tehupeiory, 2007).

Penyebab gout dapat dibedakan menjadi dua, yaitu gout primer dan gout sekunder. Penyebab gout primer adalah kelainan molekular yang masih belum jelas. Menurut Kelley & Wortmann (1997), Becker & Meenaskshi (2005), dan Wortmann (2005), prevalensi kelainan molekular yang terjadi pada gout primer sekitar 1%. Enzim yang mengalami kelainan adalah fosforibosilpirofosfatase

(PPRP) sintetase dan hipoxantin fosforibosiltransferase (HPRT). Pada PPRP sintetase, kelainan yang terjadi adalah peningkatan aktivitas dan pada HPRT adalah terjadinya defisiensi dari enzim tersebut (Putra, 2007).

Penyebab gout sekunder dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu kelainan yang menyebabkan peningkatan biosintesis *de novo*, kelainan yang menyebabkan peningkatan degradasi ATP atau pemecahan asam nukleat dan kelainan yang menyebabkan *underexcretion* (Putra, 2007).

Terdapat tiga tahapan perjalanan klinis penyakit artritis gout yang tidak diobati. Tahap-tahap yang terjadi adalah:

1) Hiperurisemia asimtomatik

Dalam tahap ini, penderita tidak menunjukkan gejala-gejala selain dari peningkatan asam urat serum. Hanya 20% dari penderita hiperurisemia asimtomatik yang berlanjut menjadi serangan gout akut.

2) Artritis gout akut

Pada tahap ini terjadi pembengkakan mendadak dan nyeri yang luar biasa, biasanya pada sendi ibu jari. Serangan dapat dipicu oleh pembedahan, trauma, obat-obatan, alkohol, dan stres emosional. Serangan gout akut biasanya pulih tanpa pengobatan, tetapi memakan waktu 10 – 14 hari.

Perkembangan dari serangan akut gout ini umumnya mengikuti serangkaian peristiwa sebagai berikut. Awalnya terjadi hipersaturasi dari urat plasma dan cairan tubuh. Lalu terjadi penimbunan di dalam dan di sekeliling sendi. Selanjutnya mulai terjadi kristalisasi asam urat dalam sendi ataupun tempat-tempat lain. Kristalisasi ini yang nantinya akan memicu peradangan lebih lanjut.

3) Artritis Gout Kronik Bertofi

Pada tahap ini, timbunan kristal asam urat terus bertambah. Peradangan kronik akibat kristal-kristal asam urat menyebabkan nyeri, sakit, kaku, juga pembesaran dan penonjolan dari sendi. Serangan akut artritis gout terjadi dalam tahap ini dan dapat terjadi pembentukan tofi (Carter, 2005).

2.2.2.1 Pengobatan Gout

Obat-obat yang dapat menurunkan kadar asam urat dalam darah dapat dibagi menjadi dua berdasarkan cara kerjanya, yaitu golongan urikostatik (penghambat xantin oksidase) dan golongan urikosurik.

a. Obat Golongan Urikostatik (Penghambat Xantin Oksidase)

Alopurinol adalah obat yang diakui poten sebagai penghambat pembentukan asam urat dari prekursornya, yaitu xantin dan hipoxantin. Alopurinol mengalami biotransformasi menjadi oxipurinol oleh xantin oksidase. Oxipurinol memiliki waktu paruhnya lebih panjang daripada alopurinol. Berdasarkan hal tersebut, alopurinol cukup diberikan satu kali dalam sehari (Wilmana, 2007).

Perubahan hipoxantin menjadi xantin dibantu oleh xantin oksidase dengan xantin oksidase merupakan enzim yang berperan dalam perubahan hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat. Apabila kerja enzim tersebut dihambat maka kadar xantin dan hipoxantin meningkat. Berdasarkan tingkat kelarutannya dalam plasma, hipoxantin dan xantin memiliki sifat lebih larut dibanding asam urat sehingga lebih mudah diekskresikan melalui urin (Katzung, 2006).

Alopurinol berguna untuk mengobati penyakit gout karena menurunkan kadar asam urat. Pengobatan jangka panjang mengurangi frekuensi serangan, menghambat pembentukan tofi, memobilisasi asam urat, dan mengurangi besarnya tofi (Wilmana, 2007).

Indikasi pemberian alopurinol antara lain penderita dengan kadar asam urat yang sangat tinggi, penderita yang tidak memberikan respon yang cukup dengan obat golongan urikosurik misalnya penderita insufisiensi ginjal, penderita yang hipersensitif dan intoleran terhadap obat golongan urikosurik, penderita dengan batu urat di ginjal, serta penderita dengan tofi yang besar yang memerlukan kombinasi alopurinol dengan urikosurik. Pada penderita gout kronik yang mengalami insufisiensi ginjal, pemberian dosis awal harus dikurangi (Katzung, 2006; Wilmana, 2007).

Efek samping yang sering terjadi adalah reaksi kulit. Selain itu, reaksi alergi berupa demam, menggigil, leukopenia atau leukositosis, eosinofilia, artralgia, dan pruritus juga pernah dilaporkan. Alopurinol dapat meningkatkan frekuensi serangan sehingga sebaiknya pada awal terapi diberikan juga kolkisin. Serangan biasanya hilang setelah beberapa bulan pengobatan (Wilmana, 2007).

b. Obat Golongan Urikosurik

Obat-obat urikosurik dapat menurunkan kadar asam urat dengan cara meningkatkan ekskresi asam urat dan menghambat reabsorpsi asam urat di tubulus ginjal. Terapi dengan obat-obat urikosurik ini sebaiknya dimulai dengan dosis kecil untuk menghindari kompensasi urikosuria dan kemungkinan terbentuk batu urat. Penatalaksanaan laju urin dan alkalinisasi urin dengan natrium bikarbonat pada beberapa hari terapi urikosurik dapat mengurangi kemungkinan terbentuknya batu urat. Obat yang biasa digunakan adalah probenesid dan sulfinpirazon (Hawkins & Rahn, 2005).

Probenesid adalah agen urikosurik yang memiliki efek yaitu mencegah reabsorpsi asam urat di tubulus serta meningkatkan ekskresinya. Oleh karena mekanisme aksinya, probenesid dikontraindikasikan untuk pasien dengan riwayat batu asam urat. Probenesid dapat menyebabkan efek samping seperti mual, demam, ruam, dan kerusakan pada organ hati (jarang terjadi) (Wall, 2008).

Sulfinpirazon mampu mencegah dan mengurangi kelainan sendi dan tofi pada penyakit pirai kronik berdasarkan hambatan reabsorpsi tubular asam urat. Dibandingkan dengan alopurinol, sulfinpirazon masih kurang efektif dalam menurunkan asam urat, malah dapat meningkatkan frekuensi serangan pada awal terapi (Wilmana, 2007).

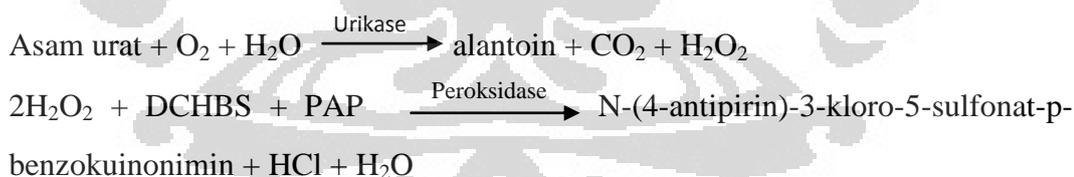
2.2.3 Metode Pengukuran Kadar Asam Urat

Metode yang dilakukan dalam pengukuran kadar asam urat dalam cairan biologis seperti darah, plasma, dan urin diantaranya adalah metode reduksi asam fosfotungstat, metode enzimatik dengan urikase, dan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) (Kaplan & Pesce, 1989).

Prinsip dari metode reduksi asam fosfotungstat adalah mereduksi asam fosfotungstat menjadi *tungsten blue* dan mengoksidasi asam urat menjadi alantoin dan karbon dioksida. *Tungsten blue* yang dihasilkan diukur pada panjang gelombang 700 nm (Kaplan & Pesce, 1989). Penggunaan metode fosfotungstat memiliki kelemahan, yaitu spesifisitas yang rendah karena adanya gangguan dari senyawa-senyawa dalam sampel darah yang juga dapat mereduksi asam fosfotungstat sehingga metode ini tidak banyak digunakan lagi (Jelikic, 2003).

Urikase digunakan untuk meningkatkan kepekaan dalam pengukuran kadar asam urat. Prinsip reaksinya adalah mengoksidasi asam urat menjadi alantoin, hidrogen peroksida, dan karbon dioksida. Hidrogen peroksida yang terbentuk bereaksi dengan 3,5-dikloro-2-hidroksibenzenesulfonat (DCHBS) dan 4-aminophenazon (PAP) membentuk zat warna kuinonimin yaitu N-(4-antipiril)-3-kloro-5-sulfonat-p-benzokuinonimin yang diukur pada panjang gelombang 520 nm. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 520 nm bertujuan untuk menghindari interferensi spektral dari hemolisis, bilirubin, dan reaksi turbidimetri, meskipun panjang gelombang maksimumnya pada 512 nm. Metode ini lebih banyak digunakan karena lebih spesifik.

Prinsip reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut (Kaplan & Pesce, 1989; Fossati, Prencipe, & Berti, 1980):



Metode KCKT yang digunakan adalah metode fase terbalik dengan deteksi spektrofotometer pada panjang gelombang 292 nm. Fase gerak yang digunakan yaitu natrium asetat : asetonitril (9:1) (Ingebretsen, Borgen, & Farstad, 1982). Selain itu, dapat juga digunakan pemisahan dengan pertukaran ion dengan deteksi elektrokimia (Slaunwhite, Pachla, & Wenke, 1975). Metode KCKT memiliki sensitifitas dan keakuratan yang tinggi karena deteksi sangat selektif berdasarkan waktu retensi (Kaplan & Pesce, 1989). Kelemahannya yaitu metode ini kurang praktis jika dibandingkan dengan metode lain sehingga metode ini tidak banyak dipakai dalam menentukan kadar asam urat dalam cairan tubuh.

2.3 Kalium Oksonat

Penghambat urikase yang poten dan dapat dipakai penelitian dengan hewan uji tikus, kelinci, anjing, mencit, dan babi agar hiperurisemia adalah kalium oksonat (B., Stavric & Nera, 1978). Dosis kalium oksonat yang diberikan sebesar 250 mg/kg bb agar hewan uji mengalami hiperurisemia (Osada, 1993). Kalium oksonat cepat mengalami bersihan. Kadar asam urat tertinggi dapat dicapai dalam waktu dua jam setelah kalium oksonat diberikan secara intraperitoneal pada tikus kemudian setelah delapan jam setelah pemberian kadar asam urat kembali normal (Cai Guo Huang et al., 2008).

Penghambat urikase yang ideal untuk menginduksi hewan coba agar hiperurisemia, memiliki syarat yaitu *irreversible*, nonkompetitif, dan relatif tidak toksik serta dapat digunakan dalam dosis kecil. Kalium oksonat bukan merupakan penghambat urikase yang ideal karena bersifat kompetitif, dieleminasi cepat dari tubuh, meski relatif tidak toksik. Saat ini penghambat urikase yang ideal untuk hewan uji tikus belum ditemukan sehingga kalium oksonat yang mudah diperoleh dapat digunakan sebagai penghambat urikase yang efektif secara *in vitro* (B., Stavric & Nera, 1978).

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia yang berlangsung dari bulan Februari – Mei 2012.

3.2 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu *blender* (Panasonic), spektrofotometer UV-Vis (Thermospectronic Genesys 20), sentrifugator (Zheng Ji THL 16), termometer, pipet mikro (Socorex), mikrohematokrit (Marienfield), *mikrotube*, penangas air (Imperial IV), sonde lambung, spuit (Terumo), timbangan analitik (Ohaus), timbangan hewan (Mettler Toledo), jarum suntik, dan alat-alat gelas lainnya.

3.3 Bahan

3.3.1 Bahan Uji

Pada penelitian ini digunakan bahan uji yaitu kacang kedelai yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITTRO) dan dideterminasi oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor (lampiran 14).

3.3.2 Bahan Kimia

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian, yaitu reagen kit asam urat (Randox), CMC (distributor Brataco Chemica), alopurinol (PT. Kimia Farma) (lampiran 12), kalium oksonat (Sigma Aldrich Chemical) (lampiran 11), eter (Merck), heparin (Fahrenheit), dan aquadest (Bumi Indah).

3.4 Hewan Uji

Hewan yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, galur *Sprague-Dawley* (lampiran 13), bobot 180 – 200 gram,

usia 2 bulan sebanyak 30 ekor. Tikus-tikus ini diaklimatisasi selama 14 hari dalam kandang hewan FMIPA UI.

3.5 Prosedur Pelaksanaan

3.5.1 Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji diaklimatisasi selama 14 hari dalam kandang di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI sebelum diberi perlakuan. Hal ini bertujuan untuk mengadaptasikan hewan uji dengan lingkungan baru dan meminimalisasi efek stres pada tikus yang dapat berpengaruh pada metabolismenya yang dapat mengganggu penelitian (Hoff, 2000). Setiap tikus diberi makan dan minum serta ditimbang berat badannya secara rutin. Dilakukan pengamatan terhadap keadaan umum tikus. Tikus yang digunakan dalam penelitian harus sehat dengan tanda-tanda bulu tidak berdiri, warna putih bersih, mata jernih, tingkah laku normal dan aktif.

3.5.2 Persiapan Bahan Uji

3.5.2.1 Penetapan Dosis Susu Kacang Kedelai

Belum ada penelitian mengenai dosis kedelai untuk mengobati asam urat. Dosis yang dipakai dalam penelitian ini yakni 25 g kacang kedelai per hari disajikan dalam 1 kali penyajian. Dosis ini mengacu pada konsumsi harian yang harus dicukupi yang dianjurkan oleh FDA agar kebutuhan tubuh akan protein dan isoflavon tercukupi (Saidu, 2005).

Dosis kacang kedelai yang digunakan pada manusia yakni sebesar 25 g per hari maka dosis untuk penggunaan terhadap tikus harus dikonversi dari dosis tersebut. Faktor konversi dari manusia ke tikus adalah 0,018 dan faktor farmakokinetika adalah 10 (Williams, 1979). Pada penelitian ini, dosis sediaan uji yang setara dosis manusia dijadikan sebagai dosis 2. Perhitungannya yaitu:

$$\text{Dosis 2: } 0,018 \times 10 \times 25 \text{ g} = 4,5 \text{ g kacang kedelai/200 g bb tikus/hari}$$

Sedangkan dosis 1 adalah setengah kali dosis 2 dan dosis 3 adalah 2 kali dosis 2 dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{dosis 1: } \frac{1}{2} \times \text{dosis 2} = 2,25 \text{ g kacang kedelai/200 g bb tikus/hari}$$

$$\text{dosis 3: } 2 \times \text{dosis 2} = 9 \text{ g kacang kedelai/200 g bb tikus/hari}$$

Berdasarkan data-data di atas, maka pada penelitian ini digunakan dosis susu kedelai sebagai berikut:

1. Dosis 1 : mengandung 2,25 g kacang kedelai/200 g bb/hari
2. Dosis 2 : mengandung 4,5 g kacang kedelai/200 g bb/hari
3. Dosis 3 : mengandung 9 g kacang kedelai/200 g bb/hari

3.5.2.2 Pembuatan Susu Kacang Kedelai

Pembuatan susu kacang kedelai dalam penelitian ini memakai metode Jumadi (2009). Pertama, kacang kedelai dibersihkan dari segala kotoran, kemudian dicuci. Kacang kedelai yang telah dibersihkan dan dicuci kemudian direbus selama \pm 15 menit, lalu direndam dalam air bersih selama 12 jam dengan perbandingan air : kedelai adalah 3 : 1.

Kacang kedelai yang sudah direndam kemudian dicuci sampai kulit arinya terkelupas. Proses berikutnya adalah kacang kedelai dihancurkan dengan penggiling/*blender*. Sebelum proses ini dimulai, kacang kedelai yang sudah dimasukkan ke dalam wadah penggiling ditambahkan air sejumlah dua kalinya, kemudian campuran tersebut digiling hingga halus. Produk yang didapat kemudian disaring dengan kain saring sehingga diperoleh larutan susu kacang kedelai.

Oleh karena volume susu kacang kedelai yang akan diberikan kepada hewan coba sebesar 3 mL maka setelah diperoleh larutan susu kacang kedelai, dilakukan proses penguapan air hingga batas kalibrasi. Proses ini dilakukan pada satu rangkaian pembuatan susu kacang kedelai tiap dosisnya. Proses ini bertujuan untuk membuat dosis menjadi lebih tepat, baik dari segi kandungan kacang kedelai yang terdapat dalam susu tersebut maupun volume yang akan diberikan ke hewan coba.

3.5.2.3 Pembuatan Sediaan Alopurinol

Dosis lazim alopurinol pada manusia adalah 200 mg per hari (Wilmana, 2007). Dosis yang akan diberikan untuk tikus harus dikonversi terlebih dahulu dengan faktor konversi dari manusia ke tikus yaitu 0,018 dan dikalikan dengan faktor farmakokinetika yaitu 10 (Williams, 1979) sehingga dosis untuk tikus

adalah $0,018 \times 10 \times 200 \text{ mg} = 36 \text{ mg}/200 \text{ g}$ bb satu kali sehari. Pembuatan sediaan dilakukan dengan dibuat menjadi sediaan suspensi menggunakan CMC dengan konsentrasi 0,5%. Pembuatan sediaan suspensi alopurinol dapat dilihat pada lampiran 2.

3.5.2.4 Pembuatan Sediaan Kalium Oksonat

Untuk membuat hewan uji menjadi hiperurisemia, dosis kalium oksonat yang harus diberikan adalah 250 mg/kg bb (Osada, 1993). Jika diasumsikan berat tikus sebesar 200 g maka dosis untuk satu tikus sebesar 50 mg/200 g bb. Pembuatan sediaan dilakukan dengan dibuat menjadi sediaan suspensi menggunakan CMC dengan konsentrasi 0,5%. Pembuatan sediaan suspensi kalium oksonat dapat dilihat pada lampiran 3.

3.6 Pelaksanaan Percobaan

Hewan uji dibagi ke dalam enam kelompok. Pengelompokan hewan uji dilakukan secara acak sederhana dengan jumlah minimal per kelompok mengikuti rumus Federer (Federer, 1963), yaitu:

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15$$

dengan : t adalah jumlah perlakuan

n adalah jumlah pengulangan untuk tiap perlakuan

Maka : $(n - 1)(6 - 1) \geq 15$

$$(n - 1)(5) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Jadi jumlah minimum tikus yang digunakan dalam tiap kelompok adalah 4 ekor.

Pada percobaan, tikus dibagi menjadi enam kelompok, yakni tiga kelompok yang diberikan sediaan susu kedelai dengan masing-masing kelompok mendapatkan satu jenis dosis sediaan susu kedelai, sedangkan tiga kelompok lainnya merupakan kelompok kontrol, yang terdiri dari kelompok kontrol normal, kontrol perlakuan, dan pembanding. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus putih jantan.

Tabel 3.1. Rincian perlakuan tiap kelompok uji selama delapan hari

No.	Kelompok	Perlakuan			
		Hari 1-7		Hari ke-8	
				Jam ke-0	Jam ke-1
I	Kontrol normal	Diberi larutan CMC 0,5%	Diberi larutan CMC 0,5%	Pemberian larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah
II	Kontrol perlakuan	Diberi larutan CMC 0,5%	Induksi kalium oksonat	Pemberian larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah
III	Pembanding	Diberi alopurinol 36 mg/200 g bb dalam larutan CMC 0,5%	Induksi kalium oksonat	Pemberian obat	Pengambilan darah
IV	Bahan Uji 1	Diberi bahan uji 1, susu kacang kedelai 2,25 g kacang kedelai/200 g bb/hari	Induksi kalium oksonat	Pemberian susu kacang kedelai	Pengambilan darah
V	Bahan Uji 2	Diberi bahan uji 2, susu kacang kedelai 4,5 g kacang kedelai/200 g bb /hari	Induksi kalium oksonat	Pemberian susu kacang kedelai	Pengambilan darah
VI	Bahan Uji 3	Diberi bahan uji 3, susu kacang kedelai 9 g kacang kedelai/200 g bb/hari	Induksi kalium oksonat	Pemberian susu kacang kedelai	Pengambilan darah

3.6.1 Perlakuan

Susu kacang kedelai diberikan menggunakan alat sonde lambung di setiap kelompok. Induksi kalium oksonat diberikan secara intraperitoneal menggunakan spuit dengan jarum 25 G. Selama perlakuan, tikus tetap diberi makan dan minum.

3.6.2 Pengambilan Darah

Pengambilan darah dilakukan di vena sinus orbital mata tikus yang terletak di sudut bola mata mengarah ke belakang bola mata. Tikus terlebih dahulu dianestesi secara inhalasi dengan menggunakan eter. Pada mata tikus, mikrohematokrit dimasukkan ke pangkal sudut bola mata sambil diputar secara

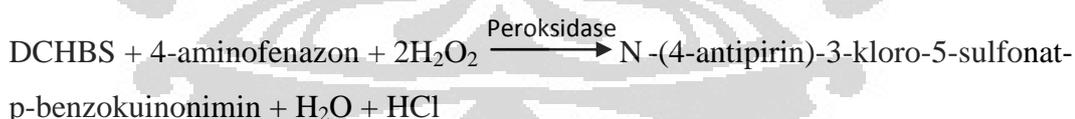
halus ke arah belakang bola mata hingga darah mengalir melalui mikrohematokrit tersebut. Darah yang keluar disebabkan karena gaya kapilaritas (Hoff, 2000).

Darah ditampung secara hati-hati ke dalam *mikrotube* yang sebelumnya telah ditetesi heparin. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit untuk mendapat filtrat yang jernih. Sentrifugasi dilakukan secara hati-hati agar mencegah terjadinya hemolisis. Plasma yang diperoleh dipisahkan dengan menggunakan pipet mikro. Pengukuran kadar asam urat langsung dilakukan setelah semua plasma sudah dipisahkan dengan hematokrit yang terbentuk.

3.6.3 Penentuan Kadar Asam Urat

Menurut Randox Laboratories Ltd. (2011), kadar asam urat diukur dengan metode kolorimetri enzimatik. Pada pengukuran menggunakan metode ini, asam urat diubah secara enzimatik menjadi allantoin dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida bereaksi dengan asam 3,5-dikloro-2-hidroksibenzensulfonat (DCHBS) dan 4-aminofenazon menjadi kuinonimin merah. Besarnya absorbansi kuinonimin merah sesuai dengan konsentrasi asam urat.

Reaksinya adalah sebagai berikut (Randox Laboratories Ltd., 2011):



Larutan blanko dan sampel yang akan dimasukkan ke dalam kuvet disiapkan dengan rincian sebagai berikut:

- Larutan blanko berisi 1000 μL reagen
- Larutan Standar berisi 20 μL standar asam urat dan 1000 μL reagen
- Larutan sampel berisi 20 μL plasma dan 1000 μL reagen

Ketiga larutan tersebut diinkubasi pada suhu 20 – 25°C selama 15 menit hingga terbentuk warna merah ungu kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 520 nm.

Besarnya kadar asam urat dalam sampel ditentukan dengan rumus:

$$\text{Kadar asam urat} = \text{Kadar asam urat standar} \times \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi standar}} \text{ (mg/dL)}$$

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah menggunakan program *IBM SPSS Statistic 19*. Data diolah untuk melihat kenormalan dan kehomogenitasannya sebagai syarat untuk uji analisis ragam atau *analysis of variance* (ANOVA). Tujuan dilakukan uji ANOVA adalah untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang bermakna secara statistik dari setiap kelompok perlakuan.

Apabila hasil uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) dan uji homogenitas (*Levene*) menghasilkan kesimpulan bahwa data yang ada bersifat terdistribusi normal dan variannya bersifat homogen maka dilakukan uji ANOVA. Kemudian, untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang berbeda bermakna secara statistik maka dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT)

Jika salah satu syarat untuk uji ANOVA tidak terpenuhi, maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis*. Untuk melihat adanya perbedaan, selanjutnya dilakukan uji *Mann-Whitney* (Dahlan, 2011).

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Tinjauan umum

Kacang kedelai, sebagai bahan baku pembuatan susu kacang kedelai, diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITTRO). Setelah dilakukan proses pencucian, perendaman, serta pemisahan antara kacang kedelai dengan kulit arinya, dilakukan proses penghancuran kacang kedelai dengan menggunakan mesin penggiling/*blender*. Sebelum proses tersebut dimulai, di dalam mesin penggiling/*blender* telah ditambahkan air. Hal ini bertujuan untuk memudahkan proses penggilingan kacang kedelai dan memaksimalkan isoflavon yang terekstrak.



Gambar 4.1. Kacang kedelai sebagai bahan dasar pembuatan susu kacang kedelai

Metode pembuatan susu kacang kedelai sangat beragam. Hal ini memengaruhi komposisi isoflavon yang terkandung dalam susu kacang kedelai. Suhu pemanasan dan lamanya susu dipanaskan serta banyaknya air yang digunakan, baik ketika merendam maupun menggiling merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi komposisi isoflavon yang terkandung dalam susu kacang kedelai tersebut.

Selain itu, penggunaan kulit ari juga mampu mempengaruhi kadar isoflavon yang terkandung dalam produk susu yang akan dihasilkan. Menurut

Figallo (2003), kandungan isoflavon terbanyak pada kedelai terdapat pada bagian hipokotil (14.000 sampai 17.500 mg/kg), dilanjutkan dengan kotiledon (1.580 – 3.190 mg/kg) dan terakhir pada kulit ari (100 – 200 mg/kg).



Gambar 4.2. Susu kacang kedelai dengan tiga macam konsentrasi

4.2 Penetapan Dosis Susu Kacang Kedelai

Pada penelitian ini, dosis kacang kedelai yang digunakan 25 g kacang kedelai per hari atau setara dengan 4,5 g kacang kedelai per hari (untuk hewan uji). Dosis tersebut merupakan dosis harian yang disarankan oleh FDA agar kebutuhan tubuh akan protein dan isoflavon tercukupi (Saidu, 2005). Dosis tersebut ditetapkan sebagai dosis 2.

Dosis 1 didapat berdasarkan hasil $\frac{1}{2}$ kali dosis 2 dan dosis 3 didapat berdasarkan hasil 2 kali dari dosis 2. Hal ini bertujuan agar dosis susu kacang kedelai yang diberikan mampu berada di kemiringan kurva log dosis-intensitas efek sehingga diharapkan pada akhir penelitian ini didapatkan dosis optimum susu kacang kedelai untuk menurunkan asam urat. Berdasarkan simulasi awal, didapatkan hasil bahwa semua dosis susu kacang kedelai dapat melewati sonde lambung.

4.3 Uji Khasiat

Hewan uji yang ideal untuk digunakan dalam penelitian ini adalah hewan dari jenis amfibi, burung, atau reptil karena jenis-jenis hewan tersebut tidak

memiliki enzim yang dapat menguraikan asam urat di dalam tubuh, yakni urikase, sama seperti manusia. Tetapi, dengan mempertimbangkan bahwa penelitian ini masih dapat dikembangkan ke tahap uji toksisitas, baik toksisitas akut, toksisitas subkronik, maupun toksisitas kronik maka dipilih tikus putih sebagai hewan uji.

Pada penelitian ini, hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley* berusia 2 bulan dengan berat 180 – 200 g. Pemilihan usia didasari oleh proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi yang diharapkan mampu berjalan optimal. Pemilihan jenis kelamin jantan dimaksudkan agar menghindari pengaruh hormonal yang tidak stabil jika menggunakan tikus betina.

Terdapat 2 pilihan penginduksi agar hewan uji menjadi hiperurisemia, yaitu dengan kafein dan kalium oksonat. Kalium oksonat dipilih sebagai agen penginduksi karena merupakan inhibitor urikase yang poten dan dapat dipakai untuk tikus (B., Stavric & Nera, 1978). Kalium oksonat bekerja sebagai penghambat urikase sehingga konversi asam urat menjadi alantoin terhambat dan menyebabkan kadar asam urat dalam darah meningkat.

Dosis kalium oksonat yang digunakan agar menghasilkan kondisi hiperurisemia, yaitu 50 mg/200 g bb diberikan secara intraperitoneal (Osada, 1993). Hal ini juga diperkuat dengan data uji pendahuluan yang telah dilakukan, yakni berdasarkan uji pendahuluan, kalium oksonat yang diberikan dalam dosis 50 mg/200 g bb secara intraperitoneal mampu menyebabkan peningkatan kadar asam urat darah sebesar 308,91%. Dosis 62,5 mg kalium oksonat/200 g bb tidak digunakan dalam penelitian sebab dikhawatirkan akan terdapat tikus yang mati selama penelitian akibat pemberian dosis tersebut.

Kadar asam urat tertinggi diperoleh dua jam setelah pemberian serta menurun kembali hingga mencapai kadar normal setelah delapan jam pemberian. Berdasarkan hal tersebut maka pengambilan darah tikus dilakukan dua jam setelah penginduksian tikus dengan kalium oksonat (Cai Guo Huang et al., 2008).

Alasan kafein tidak dipilih sebagai agen penginduksi adalah walaupun hewan uji mengalami hiperurisemia namun hewan uji memiliki urikase maka asam urat yang terbentuk akan dibiotransformasikan menjadi alantoin sehingga kadar asam urat kembali normal.

Tabel 4.1 Kadar asam urat uji pendahuluan kalium oksonat

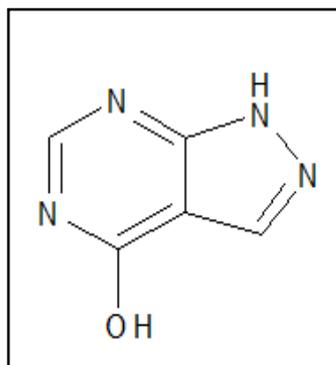
Kelompok Perlakuan	Serapan (A)	Kadar Asam Urat (mg/dL)	Kadar Asam Urat Rata-rata (mg/dL)	Standar Deviasi (SD)	Peningkatan Kadar Asam Urat (%)
Standar Asam Urat	0,308	10	10	-	-
DI	1	0,140	4,55	0,08	308,91
	2	0,138	4,48		
	3	0,135	4,38		
DII	1	0,147	4,77	0,35	322,77
	2	0,150	4,87		
	3	0,130	4,22		
KN	1	0,038	1,23	0,13	-
	2	0,033	1,07		
	3	0,030	0,97		

Keterangan : DI = Dosis I (suspensi kalium oksonat 50 mg/200 g bb), DII = Dosis II (suspensi kalium oksonat 62,5 mg/200 g bb), KN = Kelompok kontrol normal

Kalium oksonat, sebagai senyawa penginduksi asam urat, diberikan secara intraperitoneal dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5%. Hal ini disebabkan karena senyawa ini tidak larut dalam NaCl fisiologis. Oleh karena kalium oksonat diberikan dalam volume kecil maka syarat isotonisitas tidak harus terpenuhi (Gad, 2009).

Obat standar yang digunakan sebagai pembanding adalah alopurinol. Pemilihan obat standar ini didasari oleh persen efektivitas dalam menurunkan kadar asam urat. Alopurinol, sampai saat ini, masih menjadi obat yang paling banyak digunakan untuk mengatasi kadar asam urat yang tinggi di dalam darah karena merupakan agen penurun asam urat yang paling efektif (Ernst & Clark, 2009).

Alopurinol memiliki waktu paruh yang singkat (1-3 jam) namun penggunaannya tetap satu kali sehari pada penderita hiperurisemia. Hal ini didasari oleh sifat produk hasil biotransformasi oleh xantin oksidase yang masih bersifat aktif, yakni oxipurinol, serta memiliki waktu paruh yang lebih panjang dibanding alopurinol (Wilmana, 2007).



[sumber: The Merck Index, 2001]

Gambar 4.3. Rumus bangun alopurinol

Bahan uji, dalam hal ini susu kacang kedelai, diberikan selama delapan hari secara terus-menerus per oral. Hal ini diharapkan agar terjadi akumulasi di dalam tubuh. Penggunaan susu kacang kedelai tidak dapat langsung dirasakan khasiatnya dalam penurunan kadar asam urat. Oleh karena itu, mengkonsumsi susu kacang kedelai bukan sebagai pengobatan, melainkan sebagai pencegahan terhadap tingginya kadar asam urat dalam darah.

Penelitian mengenai efek pemberian suatu bahan uji secara *in vivo* ke tikus untuk dilihat pengaruhnya terhadap kadar asam urat darah tikus tidak memiliki batasan yang tetap mengenai lama pemberian bahan uji. Hal ini dapat dilihat pada beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh beberapa peneliti sebelumnya.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Sriningsih, Sari, & Priyanto (2007) yang berjudul “*Pengaruh Pemberian Teh Kombucha Terhadap Kadar Asam Urat Darah Tikus Putih Jantan*”, bahan uji diberikan selama sembilan hari. Selain penelitian di atas, penelitian yang dilakukan oleh Katrin, Elya, Amin, & Permawati (2008) yang berjudul “*Aktivitas Ekstrak Air Daun Gandarusa (Justicia gendarusa Burm.f) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Darah Tikus*”, bahan uji diberikan selama delapan hari.

Hewan uji, berupa tikus, dibagi menjadi enam kelompok yang masing-masing berjumlah 5 ekor tikus. Pembagian ini menggunakan sistem rancangan acak sederhana. Cara pengelompokan tikus dilakukan dengan metode undian yaitu semua tikus diberi nomor kemudian diundi. Tujuan pembagian secara acak ini adalah agar setiap kelompok dapat mewakili populasi tikus.

Universitas Indonesia

Pada hari pertama hingga ketujuh, tiga kelompok tikus, yakni bahan uji 1, 2, dan 3 diberikan sediaan uji berupa susu kacang kedelai. Sebanyak satu kelompok, yakni kelompok pembanding diberikan alopurinol secara oral, dan sisanya diberi sediaan suspensi CMC 0,5%. Pada hari kedelapan, lima dari enam kelompok tikus pada tiap kelompok akan diberikan injeksi intraperitoneal kalium oksonat untuk menginduksi peningkatan kadar asam urat dalam darah.

Kelompok kontrol normal merupakan satu-satunya kelompok tikus yang tidak diinduksi dengan kalium oksonat. Pada hari pertama hingga ketujuh, kelompok ini hanya diberikan larutan CMC 0,5% secara oral. Kemudian pada hari kedelapan, kelompok ini diberikan CMC 0,5% secara intraperitoneal. Kelompok ini yang akan memberikan gambaran kadar normal asam urat dalam darah tikus.

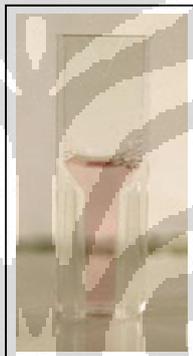
Hari pertama hingga ketujuh, tikus-tikus yang termasuk kelompok kontrol perlakuan diberikan larutan CMC 0,5% secara oral. Kemudian pada hari kedelapan, kelompok ini akan diinduksi dengan kalium oksonat secara intraperitoneal sehingga pada 2 jam setelah diinduksi, kelompok inilah yang akan memberikan gambaran kadar asam urat tertinggi yang akan dicapai tikus.

Pengambilan sampel darah dilakukan melalui vena sinus orbital tikus. Cara ini dipilih karena prosedurnya yang cepat, volume darah yang didapatkan cukup banyak, tidak membuat hewan uji menjadi stres sehingga mengurangi risiko terjadinya hemolisis. Darah yang diperoleh, yang sebelumnya sudah ditambahkan heparin ke dalam wadah penampung agar mencegah pembekuan darah, kemudian disentrifugasi untuk mendapatkan plasma. Melalui plasma inilah asam urat akan diukur kadarnya.

Sebelum dilakukan pengambilan darah, tikus dianestesi dengan eter terlebih dahulu. Pemilihan eter berdasarkan kemudahan dalam pemakaiannya, mulai kerja yang cepat serta durasi hewan coba mengalami hilang kesadaran.

Pengukuran kadar asam urat dilakukan dengan menggunakan pereaksi komersial Randox (lampiran 4). Metode pengukuran asam urat yang digunakan dalam penelitian adalah metode kolorimetri enzimatis dengan menggunakan urikase dengan hasil reaksi yang terbentuk diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Metode ini dipilih karena caranya yang sederhana serta umum digunakan karena sifatnya yang lebih spesifik.

Sampel plasma dicampur dengan reagen kit kemudian diinkubasi selama 15 menit pada suhu $20^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$. Inkubasi ini bertujuan agar sampel plasma yang mengandung asam urat akan bereaksi dengan reagen kit sehingga membentuk kuinonimin. Sebenarnya, asam urat sudah memiliki gugus kromofor, namun karena nilai absorptivitas molarnya yang rendah sehingga menghasilkan nilai absorbansi yang rendah pula. Oleh karena itu diperlukan proses derivatisasi, yaitu dalam hal ini menggunakan 3,5-dikloro-2-hidroksibenzensulfonat (DCHBS) dan 4-aminofenazon yang terdapat di dalam reagen kit Randox, untuk meningkatkan nilai absorbansinya (Randox Laboratories Ltd., 2011; Kaplan & Pesce, 1989; Fossati, Prencipe, & Berti, 1980). Besarnya nilai absorbansi kuinonimin sebanding dengan konsentrasi asam urat dalam sampel.



Gambar 4.4. Sampel plasma yang direaksikan dengan reagen kit membentuk kuinonimin

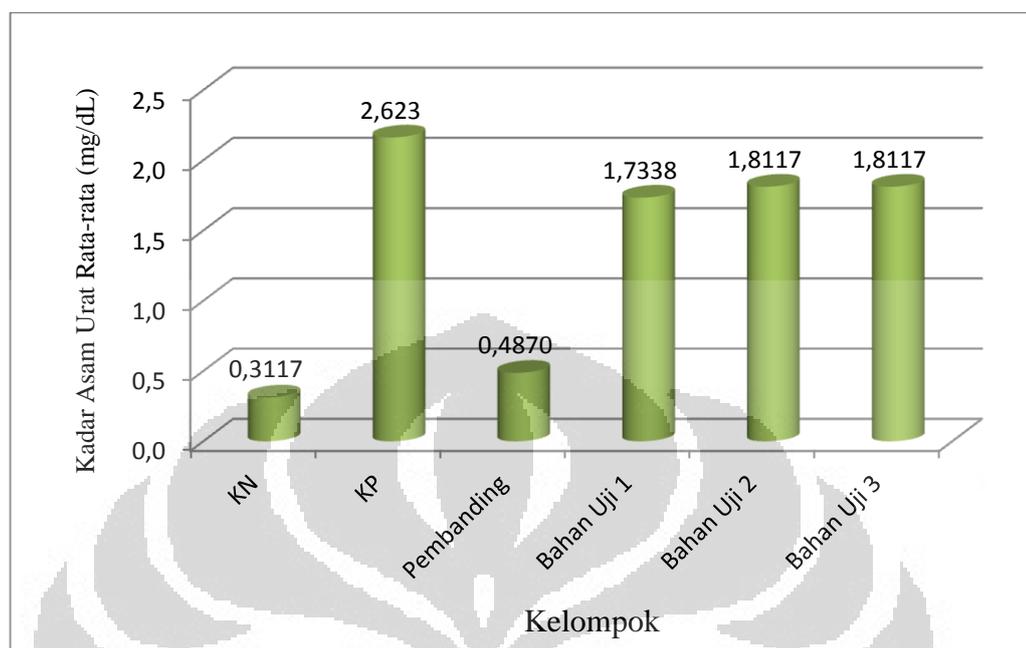
Data kadar asam urat dari pengukuran plasma darah tikus pada hari kedelapan dapat dilihat dalam tabel 4.2. dan data serapan yang dihasilkan setelah melakukan pengukuran terhadap sampel plasma menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada lampiran 15.

Tabel 4.2. Data kadar asam urat semua kelompok perlakuan pada hari ke-8

Data	Kadar Asam Urat (mg/dL)					
	Kelompok					
	KN	KP	Pembanding	Bahan Uji 1	Bahan Uji 2	Bahan Uji 3
1	0,1948	2,3377	0,4221	1,7532	1,8182	2,0130
2	0,3571	2,5325	0,4221	1,6558	1,6883	1,7532
3	0,2922	2,3377	0,6818	1,7208	2,0455	2,2727
4	0,4545	1,7532	0,5519	1,7857	2,0779	1,4935
5	0,2597	1,8506	0,3571	1,7532	1,4286	1,5260
Rata-rata (mg/dL)	0,3117	2,1623	0,4870	1,7337	1,8117	1,8117
SD	0,0990	0,3403	0,1299	0,0492	0,2681	0,3314

Keterangan : KN = kontrol normal (larutan CMC 0,5% 3 mL/200 g bb), KP = kontrol perlakuan (larutan CMC 0,5% 3 mL/200 g bb), pembanding (suspensi alopurinol 36 mg/200 g bb), bahan uji 1 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 1 (2,25 g kacang kedelai/200 g bb/hari), bahan uji 2 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 2 (4,5 g kacang kedelai/200 g bb/hari), bahan uji 3 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 3 (9 g kacang kedelai/200 g bb/hari).

Grafik kadar asam urat rata-rata semua kelompok perlakuan pada hari kedelapan perlakuan adalah sebagai berikut:



Keterangan : KN = kontrol normal (larutan CMC 0,5% 3 mL/200 g bb), KP = kontrol perlakuan (larutan CMC 0,5% 3 mL/200 g bb), pemanding (suspensi alopurinol 36 mg/200 g bb), bahan uji 1 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 1 (2,25 g kacang kedelai/200 g bb/hari), bahan uji 2 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 2 (4,5 g kacang kedelai/200 g bb/hari), bahan uji 3 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 3 (9 g kacang kedelai/200 g bb/hari).

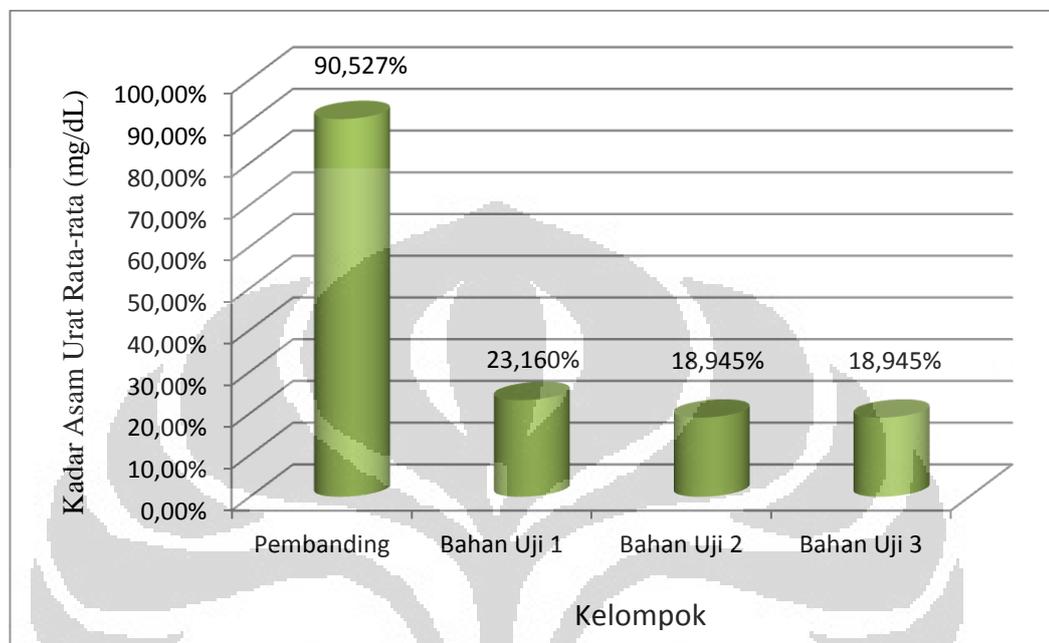
Gambar 4.5. Grafik kadar asam urat rata-rata semua kelompok setelah delapan hari perlakuan

Berdasarkan data rata-rata kadar asam urat yang diperoleh menunjukkan terdapat penurunan kadar asam urat dari kelompok bahan uji 1, 2, dan 3 bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Penurunan kadar asam urat yang paling besar yaitu pada kelompok bahan uji 1 bila antar tiga kelompok dosis susu kacang kedelai saling dibandingkan, yaitu dengan rata-rata kadar asam urat pada hari kedelapan sebesar 1,7338 mg/dL.

Setelah mendapatkan data kadar asam urat rata-rata semua kelompok pada hari kedelapan penelitian, selanjutnya dihitung persentase penurunan kadar asam urat rata-rata dari setiap kelompok bahan uji terhadap kelompok kontrol normal dan kelompok pemanding (lampiran 5 dan 6). Penurunan kadar asam urat rata-

rata setiap kelompok dosis terhadap kelompok kontrol normal dan kelompok pembanding terlihat pada Gambar 4.6 dan Gambar 4.7

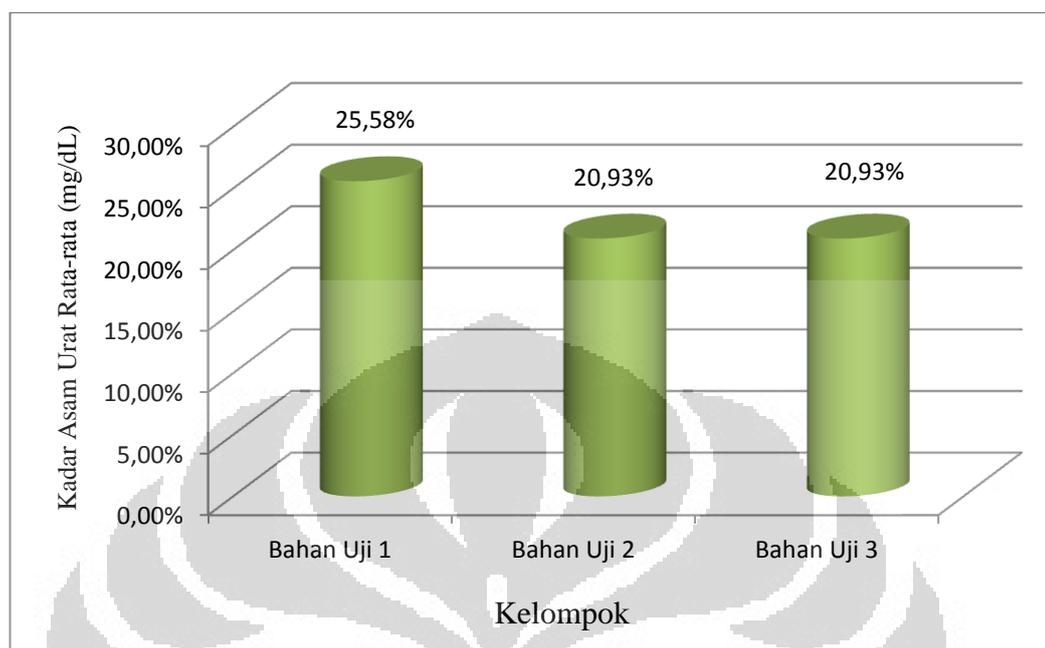
Data penurunan kadar asam urat rata-rata ditunjukkan pada grafik berikut:



Keterangan : pembanding (suspensi alopurinol 36 mg/200 g bb), bahan uji 1 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 1 (2,25 g kacang kedelai/200 g bb/hari), bahan uji 2 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 2 (4,5 g kacang kedelai/200 g bb/hari), bahan uji 3 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 3 (9 g kacang kedelai/200 g bb/hari).

Gambar 4.6. Grafik penurunan kadar asam urat rata-rata kelompok bahan uji dan kelompok pembanding (alopurinol) terhadap kelompok kontrol normal

Data efektivitas penurunan kadar asam urat dapat dilihat pada tabel di bawah ini:



Keterangan : bahan uji 1 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 1 (2,25 g kacang kedelai/200 g bb/hari), bahan uji 2 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 2 (4,5 g kacang kedelai/200 g bb/hari), bahan uji 3 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 3 (9 g kacang kedelai/200 g bb/hari).

Gambar 4.7. Grafik efektivitas penurunan kadar asam urat rata-rata kelompok bahan uji terhadap kelompok pembandingan (alopurinol)

Data kadar asam urat yang diperoleh kemudian diuji kenormalan dengan uji *Saphiro-Wilk* dan kehomogenan varian dari data dengan uji *Levene*. Analisis data menunjukkan bahwa data kadar asam urat terdistribusi normal ($p > 0,05$) (lampiran 6) dan setelah dilakukan transformasi, data memiliki varian yang homogen ($p > 0,05$) (lampiran 7). Maka syarat melakukan uji beda dengan menggunakan analisis varian satu arah (ANOVA) telah terpenuhi. Uji ANOVA berguna untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan kadar asam urat antarkelompok perlakuan. Hasilnya menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) (lampiran 8) minimal pada dua kelompok perlakuan sehingga untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda secara bermakna dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT). Hasil uji BNT dapat dilihat di lampiran (Lampiran 9). Di bawah ini merupakan tabel hasil interpretasi data uji BNT

Tabel 4.3. Data interpretasi hasil pengolahan data dengan uji beda nyata terkecil (BNT)

		Kelompok					
		KN	KP	Pembanding	Bahan Uji 1	Bahan Uji 2	Bahan Uji 3
Kelompok	KN		v	v	v	v	v
	KP	v		v	v	x	x
	Pembanding	v	v		v	v	v
	Bahan Uji 1	v	v	v		x	x
	Bahan Uji 2	v	x	v	x		x
	Bahan Uji 3	v	x	v	x	x	

Keterangan simbol :

v : terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik

x : tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik

Keterangan : KN = kontrol normal (larutan CMC 0,5% 3 mL/200 g bb), KP = kontrol perlakuan (larutan CMC 0,5% 3 mL/200 g bb), pembanding (suspensi alopurinol 36 mg/200 g bb), bahan uji 1 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 1 (2,25 g kacang kedelai/200 g bb/hari), bahan uji 2 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 2 (4,5 g kacang kedelai/200 g bb/hari), bahan uji 3 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 3 (9 g kacang kedelai/200 g bb/hari).

Bila data kadar asam urat rata-rata pada hari kedelapan dari bahan uji 1, 2 dan 3 dibandingkan dengan data kelompok kontrol perlakuan maka hasil yang didapat adalah hanya bahan uji 1 yang memiliki perbedaan yang bermakna secara statistik. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa secara statistik, hanya bahan uji 1 yang menunjukkan penurunan kadar asam urat yang bermakna ($p < 0,05$) setelah delapan hari dilakukan pemberian ke hewan uji. Sedangkan bahan uji 2 dan 3, secara statistik, tidak menunjukkan penurunan kadar asam urat yang bermakna ($p > 0,05$) setelah delapan hari pemberian ke hewan uji.

Bila data kadar asam urat rata-rata pada hari kedelapan dari bahan uji 1, 2 dan 3 dibandingkan dengan data kelompok kontrol normal maka hasil yang didapat adalah tidak ada kelompok bahan uji yang memiliki perbedaan yang bermakna secara statistik terhadap kelompok kontrol perlakuan. Sehingga dapat dikatakan bahwa, secara statistik, semua kelompok bahan uji tidak mampu menurunkan kadar asam urat hingga mencapai kadar normal ($p > 0,05$).

Bila data kadar asam urat rata-rata pada hari kedelapan antar bahan uji 1, 2 dan 3 saling dibandingkan maka hasil yang didapat adalah tidak ada satupun kelompok bahan uji yang menunjukkan hasil adanya perbedaan yang bermakna secara statistik ($p > 0,05$). Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa

penurunan kadar asam urat yang terjadi dan nilai efektivitas penurunan asam urat setelah pemberian bahan uji 1, 2, dan 3 bernilai sama secara statistik.

Berdasarkan data di atas dapat dilihat bahwa pemberian bahan uji berupa susu kacang kedelai dosis 2,25 g/hari memiliki nilai persen penurunan dan persen efektivitas tertinggi dibanding bahan uji lainnya, yaitu berturut-turut 23,160% dan 25,58% dibanding bahan uji 2 (4,5 g/hari) yaitu 18,945% dan 20,93% serta bahan uji 3 (9 g/hari) yaitu 18,945% dan 20,93%. Hal ini disebabkan karena kandungan isoflavon dan flavon yang dapat dalam bahan uji 2 dan 3 tidak dapat menandingi kadar purin yang juga terdapat di dalamnya. Sebab lainnya yaitu diduga xantin oksidase yang terdapat dalam tubuh tikus sudah bersifat jenuh sehingga dengan meningkatnya dosis maka tidak akan meningkatkan efektivitas penurunan kadar asam urat darah.

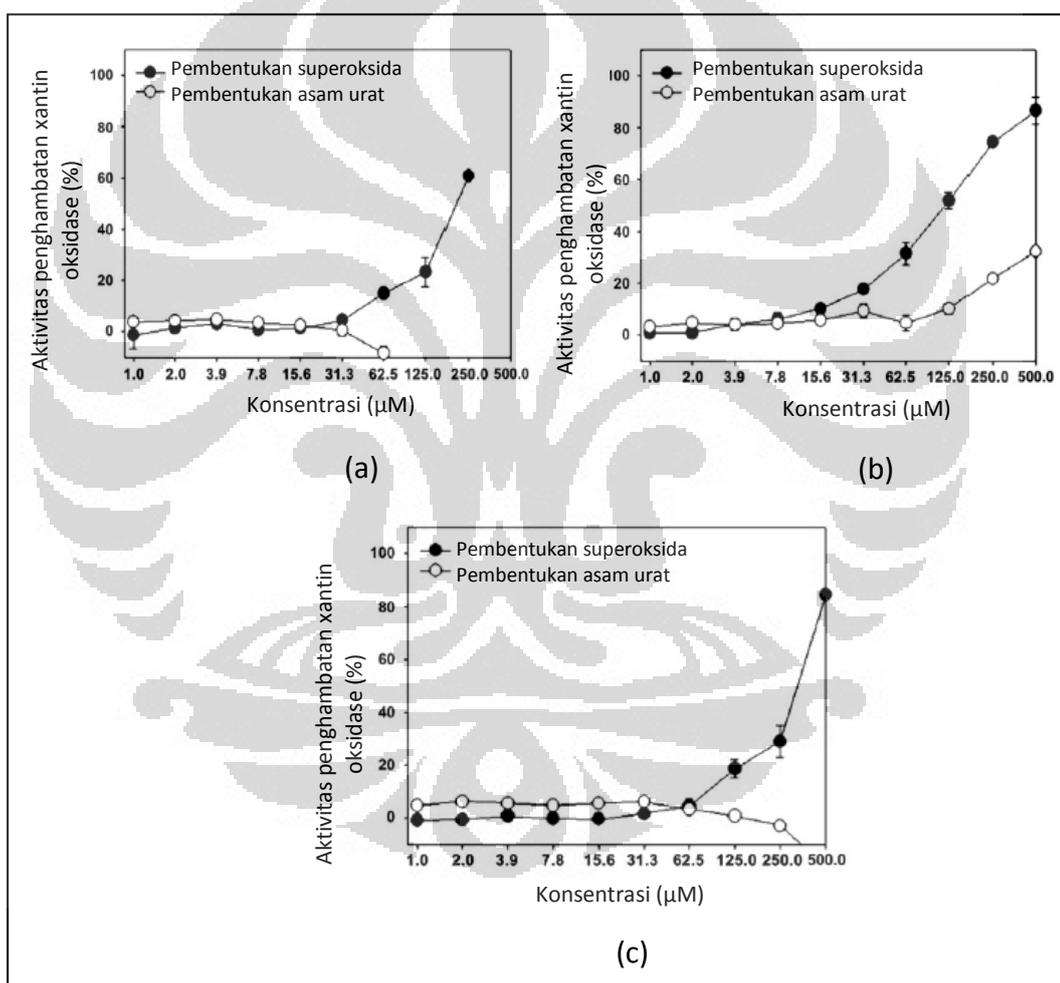
Seperti pada pembahasan sebelumnya, kandungan yang paling dominan yang terdapat dalam kacang kedelai adalah isoflavon. Menurut penelitian yang dilakukan oleh van Hoorn (2002) dalam penelitiannya yang berjudul "*Accurate Prediction of Xanthine Oxidase Inhibition based on The Structure of Flavonoids*", dari empat subkelas flavonoid yang diujikan (flavon, flavonon, isoflavon, dan katekin) hanya kerangka flavon yang menunjukkan aktivitas penghambatan xantin oksidase. Hal ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Jun-Seong Park, Hye Yoon Park, Dong Hyun Kim, Duck Hee Kim, dan Han Kon Kim.

Menurut Jun-Seong Park, Hye Yoon Park, Dong Hyun Kim, Duck Hee Kim, dan Han Kon Kim (2008) dalam penelitiannya yang berjudul "*ortho-Dihydroxyisoflavone Derivates from Aged Doenjang (Korean Fermented Soypaste) and Its Radical Scavenging Activity*", nilai IC_{50} dari penghambatan kerja xantin oksidase dari senyawa daidzein, glisitein, dan genistein sangat rendah. Nilai IC_{50} ini ditentukan berdasarkan kemampuannya menghambat pembentukan superoksida dan asam urat. Dalam hal penghambatan pembentukan superoksida, daidzein, genistein, dan glisitein dianggap mampu menghambat pembentukannya. Kemudian, dalam hal penghambatan pembentukan asam urat, hanya genistein yang menunjukkan penghambatan pembentukan asam urat.

Tabel 4.4. Nilai penghambatan pembentukan superoksida dan asam urat pada daidzein, genistein, dan glisitein serta pada alopurinol

Sampel	Aktivitas penghambatan xantin oksidase (IC ₅₀ , μM)	
	Pengambatan pembentukan superoksida	Penghambatan pembentukan asam urat
Daidzein	429,8 ± 12,7	> 1000
Genistein	682,6 ± 41,2	> 1000
Glisitein	232,5 ± 8,7	> 1000
Alopurinol	21,8 ± 0,8	11,4 ± 1,1

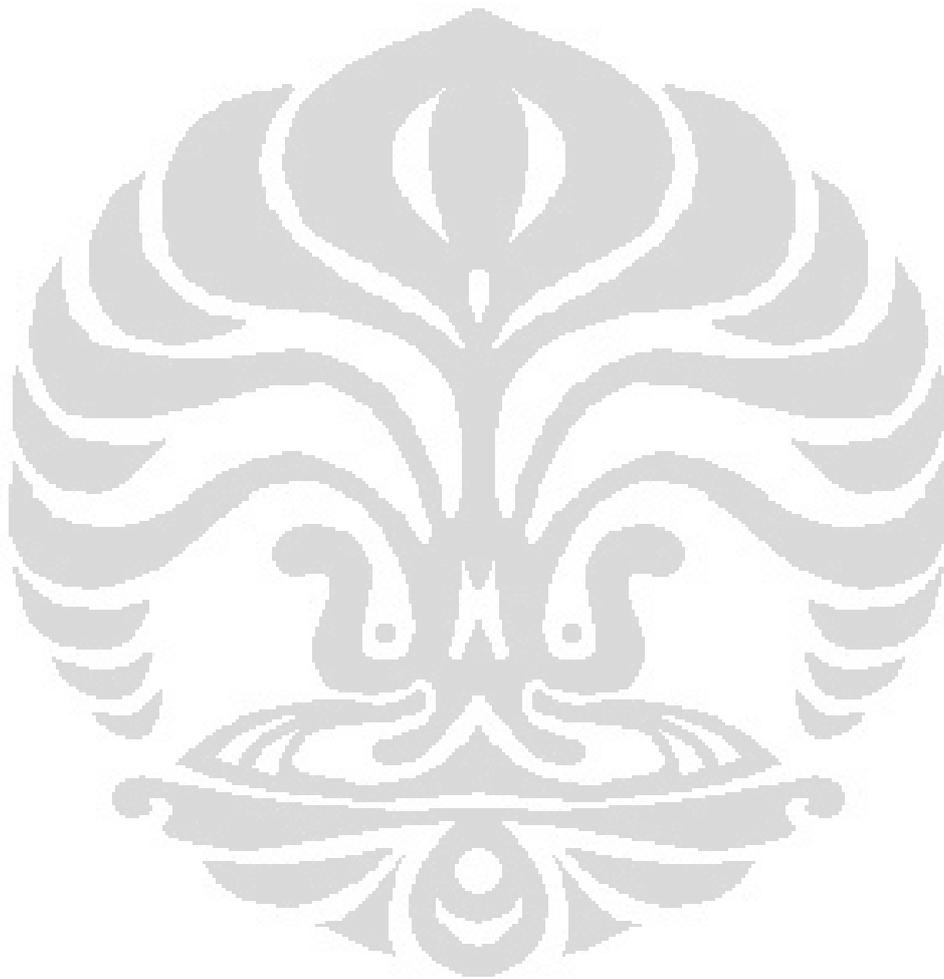
[Sumber: Jun-Seong Park, Hye Yoon Park, Dong Hyun Kim, Kim Duck Hee, & Han Kon Kim., 2008, telah diolah kembali]



[Sumber: Jun-Seong Park, Hye Yoon Park, Dong Hyun Kim, Kim Duck Hee, & Han Kon Kim., 2008, telah diolah kembali]

Gambar 4.8. Kurva pembentukan superoksida dan asam urat dari (a) daidzein, (b) genistein, dan (c) glisitein

Berdasarkan data dan pembahasan di atas, pemberian susu kacang kedelai lebih tepat ditujukan sebagai pencegahan. Diharapkan dengan mengonsumsi susu kacang kedelai dan dibantu dengan mengonsumsi air putih yang cukup, kadar asam urat darah pasien dengan kondisi hiperurisemia mampu menurun berangsur-angsur sehingga mampu meningkatkan kualitas hidup pasien.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa pemberian susu kacang kedelai dengan dosis 2,25, 4,5, dan 9 g per hari dapat menurunkan kadar asam urat darah tikus putih jantan secara bermakna ($p < 0,05$). Penurunan kadar asam urat tertinggi terjadi pada pemberian bahan uji 2,25 g kacang kedelai per hari dengan efektivitas sebesar 25,58%.

5.2 Saran

- a) Perlu dilakukan penurunan dosis bahan uji kemudian dilihat efek yang ditimbulkan setelah dilakukan pemberian pada tikus model hiperurisemia.
- b) Perlu dilakukan pemisahan terhadap kandungan purin yang terdapat dalam susu kacang kedelai kemudian dilihat efek yang ditimbulkan setelah dilakukan pemberian susu kacang kedelai hasil pemisahan pada tikus model hiperurisemia

DAFTAR ACUAN

- Azis, S. (2009). *Hidup Sehat Menyeluruh dan Alami : Penanggulangan Rasa Nyeri*. Jakarta: Sarana Pustaka Prima, 35 – 43.
- B., Stavric, & E.A, Nera. (1978). Use of The Uricase-Inhibited Rat as an Animal Model in Toxicology. *Clin Toxicol.*, 13(1), 47 – 74.
- But, P. P. H. *Glycine max* (L.) Merr. (Leguminosae). (1996). Dalam Takeatsu Kimura, Paul P. H. But, Ji-Xian Guo, & Chung Ki Sung (Ed.). *International Collation of Traditional and Folk Medicine* (vol. 1). USA: World Scientifict, 63 – 63.
- Cai Guo Huang, Yan Ju Zhang, Jian Rong Zang, Wen Jie Li, & Bin Hua Jiao. (2008). Hypouricemic Effect of Phenylpropanoid Glycosides Acteoside of *Scrophularia ningpoensis* on Serum Uric Acid Levels in Potassium Oxonate-Pretreated Mice. *Am J Chin Med*, 36(1), 149 – 157.
- Carter, M. A. (Ed.). (2005). Gout. Dalam S. A. Price & L. M. Wilson. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit* (Ed. ke-6 Vol. 2). (Huriawati Hartanto, Natalia Susi, Pita Wulansari, & Dewi Asih Mahanani, Penerjemah). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1402 – 1405.
- Choi, H. K., Atkinson, K., Karlson, E. W., Willet, W., & Curhan, G. (2004). Purin-Rich Food, Dairy and Protein Intake, and The Risk of Gout in Men. *N Engl J Med.*, 350 (11), 1093 – 1103.
- Dahlan, M. S. (2011). *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika, 1 – 86.
- Daniel, M. (2006). *Medicinal Plant : Chemistry and Properties*. USA: Science Publisher, 45 – 46.
- Ernst, M. E. & Clarck, E. C. (2009). Gout. Dalam William D. Linn, Marion R. Wofford, Mary Elizabeth O’Keefe, & L. Michael Posey. (Ed.) *Pharmacoterapy in Primary Care*. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc, 389 – 395.
- Federer, W. T. (1963). *Experimental design: theory and application*. New York: The Macmillan Company., 19.
- Figallo, Victor B. (2003). *Effect of Planting Time and Location on the Isoflavone Content and Profile Different Soybean (Glycine max (L.) MERRIL) Cultivars*. Thesis. The Faculty of the Graduate School of The University of Maryland.
- Fossati, P., Prencipe, L., & Berti, G. (1980). Use of 3,5-Dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic Acid/ 4-Aminophenazone Chromogenic System

- in Direct Enzymic Assay of Uric Acid in Serum and Urine. *Clin Chem.*, 26(2), 227 – 231.
- Gad, S. (2009). *Drug Safety Evaluation* (2nd ed.). Canada: John Wiley & Sons, Inc. 164 – 166.
- Harsini, W. (2008). Penggunaan Herbal di Bidang Kedokteran Gigi. *Bagian Ilmu Biomaterial Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada*, 15(1), 61 – 64.
- Hawkins, D. W. & Rahn, D. W. (2005). Gout and Hyperuricemia. Dalam Joseph T. DiPiro, Robert L. Talbert, Gary C. Yee, Gary R. Matzke, Barbara G. Wells, & L. Michael Posey (Ed.). *Pharmacotherapy A pathophysiologic Approach* (6th ed.). USA: The McGraw-Hill Companies, 1705 – 1710.
- Hoff, S. (2000). *Methods of Blood Collection in The Mouse. Lab Animal*, 50 – 51.
- Ingebresten, OC., Borgen, J, & Farstad, M. (1982). Uric Acid Determination : Reversed-phase Liquid Chromatography with Ultraviolet Detection Compared with Kinetic and Equilibrium Adaptations of The Uricase Method. *Clin Chem.*, 28, 496 – 498.
- Jelkic-Stankov, M., Djurdjevic, P., & Stankov, D. (2003). Determination of Uric Acid in Human Serum by an Enzimatic Method Using N-methyl-N-(4-aminophenyl)-3-methoxyaniline Reagent. *J Serb Chem Soc.*, 68 (8-9), 691 – 698.
- Jumadi. (2009) Pengkajian Teknologi Pengolahan Susu Kedelai (Vol.14 No.1). *Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 34 – 36.
- Jun-Seong Park, Hye Yoon Park, Dong Hyun Kim, Kim Duck Hee, & Han Kon Kim. (2008). Ortho-Dihydroxyisoflavone derivatives from aged Doenjang (Korean fermented soypaste) and its radical scavenging activity. *Bioorg Med Chem Let.*, 18, 5006 – 5009.
- Kaplan, Lawrence A., & J, Pesce A. (1989). *Clinical Chemistry Theory : Analysis and Correlation*. (2nd ed.). Missouri: Mosby Company, 1024 – 1026.
- Katrin, Elya B., Amin, J., & Permawati, M. (2009). Aktivitas Ekstrak Air Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.f) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Darah Tikus. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 7(1), 24 – 28.
- Katzung, B.G., Masters, S.B., & Trevor, A.J. (2006). *Basic and Clinical Pharmacology*. (10th ed.). San Fransisco: Mc.Graw Hill, 489 – 493.
- Khushk, I., Dahot, M. U., Baloach, S. A., & Bhuto, M. A. (2010). The Evaluation od Soybean Extracts in Alloxan-Induced Diabetic Rabbits. *World Appl Sci J.*, 8, 22 – 25.
- Koolman, J., & Roehm, KH. (2005). *Color Atlas of Biochemistry* (2nd ed.). Stuttgart: Germany, 187.

- Koswara, S. (2006). *Isoflavon : Senyawa Multi-manfaat dalam Kedelai*. Januari 6, 2012. Institut Pertanian Bogor, Fakultas Teknologi Pertanian. <http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/30646/www.ebookpangan.com%20ARTIKELI%20SOFLAVON%2c%2520ZAT%2520MULTI%2520MANFAAT%2520%2520DALAM%2520KEDELAI.pdf?sequence=1>
- Martindale*. (36th ed.). (2009). Pharmaceutical Press: Great Britain (CD-ROM).
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., & Rodwell, V. W. (2003). *Harper's Illustrated Biochemistry* (26th ed.). USA: The McGraw-Hill Companies, Inc, 293 – 301.
- National Agricultural Library : Nutrient Data Lab. (2011). Januari 11, 2011. <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/4802?fg=&man=&facet=&format=&count=&max=25&offset=&sort=&qlookup=soybean>
- Osada, Y. M. Tsuchimoto, H. Fukushima, K. Takahashi, S. Kondo, M Hasegawa, & K. Komoriya. (1993). Hypouricemic Effect of The Novel Xantine Oxidase Inhibitor, TEI-6720, in Rodent. *Eur J Pharmacol.*, 241, 183 – 188.
- Palaniswamy, Usha R. (2008). *Asian Crops and Human Dietetics*. New York: The Hawort Press, 283 – 285.
- Plowden, C. Chicheley. (1972). *A Manual of Plant Names* (3rd ed.). London: George Allen & Unwin Ltd, 219 – 234.
- Pitojo, S. (2003). *Benih Kedelai*. Yogyakarta: Kanisius, 17.
- Putra, Tjokorda R. (2006). Hiperurisemia. Dalam Aru W. Sudoyo, Bambang Setyohadi, Idrus Alwi, Marcellus Simadibrata K., & Siti Setiati (Ed.). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. (Ed. ke-4). Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1203 – 1206.
- Saidu, Janette Ethel P. (2005). *Development, Evaluation, and Characterization of Protein-Isoflavone Enriched Soymilk*. Dissertation. The Departement of Food Science Lousiana State University.
- Slaunwhite, WD, Pachla, LA., Wenke, DC., & Kissinger, PT. (1975). Colorimetric, Enzymatic, and Liquid-Chromatographic Methods for Serum Uric Acid Compared. *Clin Chem.*, 21, 1427 – 1429.
- Sriningsih, Sari, Sugi P., & Priyanto. (2007). Pengaruh Pemberian Teh Kombucha Terhadap Kadar Asam Urat Darah Tikus Putih Jantan. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 6(3), 118 – 121.
- Steenis, C. G. G. J., S., Bloembergen, & J., Eyma P. (1975). *Flora untuk Sekolah di Indonesia* (Moeso Surjowinoto, Penerjemah). Jakarta Pusat: PT Pradnya Paramita, 239 – 240.

- Sutarno, H. (1993). Kedelai. Dalam Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi-LIPI dan Balai Metodologi Informasi Pertanian Ciawi-DEPTAN. *Lembaran Informasi PROSEA (Plant Resources of South-East Asia)* (Vol. 1 no.1). PROSEA Indonesia: PROSEA Fondation, 7 – 8.
- Tehupeiory, E. S. (2006). Arthritis Pirai (Arthritis Gout). Dalam Aru W. Sudoyo, Bambang Setyohadi, Idrus Alwi, Marcellus Simadibrata K., & Siti Setiati (Ed.). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. (Ed. ke-4). Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1208 – 1210.
- The Merck Index*. (13th ed.). (2001). New Jersey: Merck & Co., Inc (CD-ROM).
- Ulbricht, C., & Seamon, E. (2010) *Natural Standard Herbal Pharmacotherapy*. Missouri: Elsevier inc., 187.
- Van Hoorn, Danny E. C., et al. (2002). Accurate prediction of xanthine oxidase inhibition based on the structure of flavonoids. *Eur J Pharmacol.*, 451, 111 – 118.
- Wall. Geoffrey C. (2008). Gout and Hyperuricemia. Dalam Chrisholm-Burns, Marie A. et al. (Ed.) *Pharmacoteraphy: Principle & Practice*. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc, 891 – 898.
- Williams, R. (1979). Species variations in drug biotransformation. In: B. La Du, H. Mandel & E. Way. *Fundamental of drug metabolism and drug disposition*. New York: The Williams and Wilkins Company., 187 – 203.
- Wilmana, P. F., & G., Sulistia. (2006). Analgesik-Antipiretik Analgesik Anti-Inflamasi Non Steroid Lainnya. Dalam Sulistia Gan Gunawan, Rianto Setiabudy, Nafrialdi, & Elysabeth (Ed.). *Farmakologi dan Terapi*. (Ed. ke-5). Jakarta: Departemen Farmakologi dan Trapetik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 242 – 246.



Lampiran 1. Konversi dan perhitungan dosis susu kacang kedelai

Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah angka kebutuhan protein dan isoflavon per hari, yaitu 25 gram kacang kedelai. Karena 25 g/hari adalah dosis untuk digunakan pada manusia maka diperlukan konversi dosis untuk penggunaan terhadap tikus. Faktor konversi dari manusia ke tikus adalah 0,018 dan faktor farmakokinetika adalah 10. Pada penelitian ini, dosis sediaan uji yang setara dosis manusia dijadikan sebagai dosis 2. Perhitungannya yaitu:

Dosis 2: $0,018 \times 10 \times 25 \text{ g} = 4,5 \text{ g kacang kedelai/200 g bb/hari}$

Sedangkan dosis 1 adalah setengah kali dosis 2 dan dosis 3 adalah 2 kali dosis 2 dengan perhitungan sebagai berikut:

Dosis 1: $\frac{1}{2} \times \text{dosis 2} = 2,25 \text{ g kacang kedelai/200 g bb/hari}$

Dosis 3: $2 \times \text{dosis 2} = 9 \text{ g kacang kedelai/200 g bb/hari}$

Berdasarkan data-data di atas, maka pada penelitian ini digunakan dosis susu kedelai sebagai berikut:

1. Bahan Uji 1 : mengandung 2,25 gram kacang kedelai/200 g bb/hari
2. Bahan Uji 2 : mengandung 4,5 gram kacang kedelai/200 g bb/hari
3. Bahan Uji 3 : mengandung 9 gram kacang kedelai/200 g bb/hari

Volume per oral yang diberikan adalah 3 mL/200 g bb untuk masing-masing hewan uji.

Lampiran 2. Konversi dosis dan pembuatan sediaan suspensi alopurinol

Dosis lazim alopurinol pada manusia adalah 200 mg per hari. Dosis yang akan diberikan untuk tikus adalah

$$0,018 \times 10 \times 200 \text{ mg} = 36 \text{ mg}/200 \text{ g bb satu kali sehari,}$$

dengan asumsi jumlah tikus yang diberikan sebanyak 10 ekor per hari maka alopurinol yang ditimbang sebanyak:

$$36 \text{ mg} \times 10 \text{ ekor} = 360 \text{ mg alopurinol}$$

Alopurinol diinjeksikan dengan pembawa CMC 0,5%. CMC yang dibuat adalah sebanyak:

30 mL CMC 0,5% , dengan CMC yang ditimbang sebanyak:

$$\frac{30}{100} \times 0,5 \text{ gram CMC} = 0,15 \text{ gram CMC}$$

Pembuatan sediaan suspensi alopurinol dilakukan dengan ditimbang 0,15 g serbuk CMC dan ditaburkan pada 20 mL akuades hangat dengan suhu 60-70°C dalam lumpang lalu didiamkan selama kurang lebih 15 menit hingga CMC mengembang. Kemudian larutan kental yang terbentuk digerus hingga homogen. Kemudian ditambahkan 360 mg alopurinol ke dalamnya lalu digerus homogen. Ditambahkan sisa akuades ke dalam sediaan tersebut, yaitu sebanyak 10 mL. Pembuatan sediaan ini dilakukan selama delapan hari.

Lampiran 3. Konversi dosis dan pembuatan sediaan suspensi kalium oksonat

Untuk membuat hewan uji menjadi hiperurisemia, dosis kalium oksonat yang harus diberikan adalah 250 mg/kg bb (Osada, 1993). Jika diasumsikan berat tikus sebesar 200 g maka dosis untuk satu tikus sebesar 50 mg/200 g bb. Pembuatan sediaan dilakukan dengan dibuat menjadi sediaan suspensi menggunakan CMC dengan konsentrasi 0,5%.

Dosis kalium oksonat yang digunakan yaitu 50 mg/200 g bb, dengan asumsi banyaknya tikus yang diberikan dalam satu rangkaian sebanyak 40 ekor maka kalium oksonat yang ditimbang sebanyak

$$50 \text{ mg} \times 40 \text{ ekor} = 2000 \text{ mg kalium oksonat}$$

Kalium oksonat diinjeksikan dengan pembawa CMC 0,5%. CMC yang dibuat adalah sebanyak:

120 mL CMC 0,5% , dengan CMC yang ditimbang sebanyak:

$$\frac{120}{100} \times 0,5 \text{ gram CMC} = 0,6 \text{ gram CMC}$$

Pembuatan sediaan suspensi alopurinol dilakukan dengan ditimbang 0,6 g serbuk CMC dan ditaburkan pada 20 mL akuades hangat dengan suhu 60-70°C dalam lumpang lalu didiamkan selama kurang lebih 15 menit hingga CMC mengembang. Kemudian larutan kental yang terbentuk digerus hingga homogen. Kemudian ditambahkan 2000 mg kalium oksonat ke dalamnya lalu digerus homogen. Ditambahkan sisa akuades ke dalam sediaan tersebut, yaitu sebanyak 100 mL. Pembuatan sediaan ini dilakukan pada hari kedelapan.

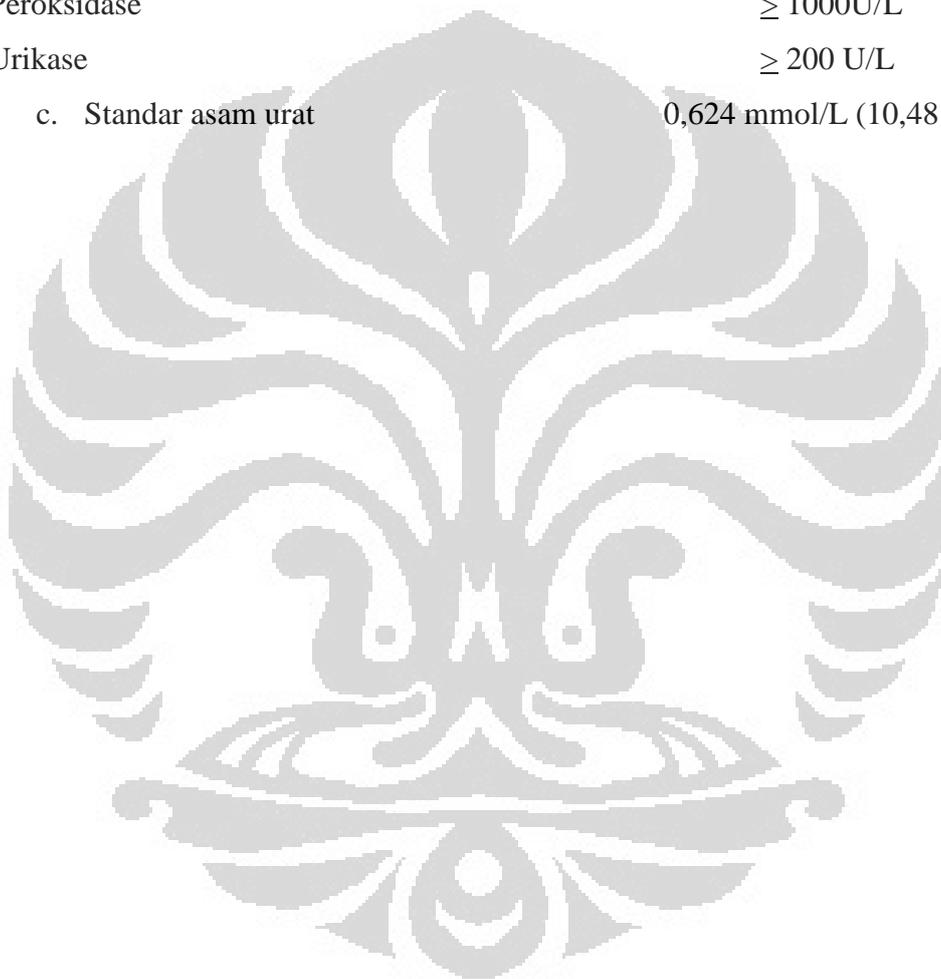
Lampiran 4. Kandungan pereaksi asam urat (Randox)

a. Larutan Dapar:

Dapar Hepes pH 7,0	50 mmol/L
Asam 3,5-dikloro-2-hidroksi-benzenesulfonat	4 mmol/L

b. Pereaksi Enzim:

4-Aminafenazon	0,25 mmol/L
Peroksidase	≥ 1000 U/L
Urikase	≥ 200 U/L
c. Standar asam urat	0,624 mmol/L (10,48 mg/dL)



Lampiran 5. Perhitungan penurunan kadar asam urat rata-rata kelompok bahan uji dan kelompok pembanding (alopurinol) terhadap kelompok kontrol normal

Rumus perhitungan efektivitas

$$\% \text{ efektivitas} = \frac{\text{kadar induksi-kadar sampel}}{\text{kadar induksi-kadar normal}} \times 100\%$$

Berdasarkan data penelitian, kadar rata-rata kelompok kontrol perlakuan = 2,1623 mg/dL dan kadar normal rata-rata = 0,3117 mg/dL

Perhitungan % efektivitas:

$$\% \text{ efektivitas bahan uji 1} = \frac{2,1623 - 1,7337}{2,1623 - 0,3117} \times 100\% = 23,160\%$$

$$\% \text{ efektivitas bahan uji 2} = \frac{2,1623 - 1,8117}{2,1623 - 0,3117} \times 100\% = 18,945\%$$

$$\% \text{ efektivitas bahan uji 3} = \frac{2,1623 - 1,8117}{2,1623 - 0,3117} \times 100\% = 18,945\%$$

$$\% \text{ efektivitas alopurinol} = \frac{2,1623 - 0,4870}{2,1623 - 0,3117} \times 100\% = 90,527\%$$

Lampiran 6. Perhitungan efektivitas penurunan kadar asam urat kelompok dosis terhadap pembanding alopurinol

Rumus perhitungan efektivitas

$$\% \text{ efektivitas} = \frac{\% \text{ efektivitas bahan uji}}{\% \text{ efektivitas alopurinol}} \times 100\%$$

Perhitungan % efektivitas:

$$\% \text{ efektivitas bahan uji 1} = \frac{23,160\%}{90,527\%} \times 100\% = 25,58\%$$

$$\% \text{ efektivitas bahan uji 2} = \frac{18,945\%}{90,527\%} \times 100\% = 20,93\%$$

$$\% \text{ efektivitas bahan uji 3} = \frac{18,945\%}{90,527\%} \times 100\% = 20,93\%$$

Lampiran 7. Uji normalitas (uji *Saphiro-Wilk*) terhadap data kadar asam urat plasma tikus

a. Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

b. Hipotesis :

Ho = Data kadar asam urat plasma tikus setelah perlakuan terdistribusi normal

Ha = Data kadar asam urat plasma tikus setelah perlakuan yang tidak terdistribusi normal

c. Uji Statistik : Tes Normalitas *Saphiro-Wilk*

d. Kriteria Uji :

Jika Signifikansi < 0,05, Ho ditolak

Jika Signifikansi > 0,05, Ho diterima

e. Hasil :

Tes Normalitas

	Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Sig.
Bahan Uji 1	,914	5	,492
Bahan Uji 2	,932	5	,612
Bahan Uji 3	,919	5	,524
Pembanding (alopurinol)	,905	5	,441
Kontrol Perlakuan	,872	5	,275
Kontrol Normal	,981	5	,940

Nilai signifikansi data-data pada tiap kelompok > 0,05

f. Kesimpulan : Ho diterima sehingga data kadar asam urat plasma tikus setelah perlakuan terdistribusi normal

Lampiran 8. Uji homogenitas (uji *Levene*) terhadap data kadar asam urat plasma tikus

a. Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data sebagai syarat uji ANOVA

b. Hipotesis :

Ho = Data kadar asam urat plasma tikus setelah perlakuan bervariasi homogen

Ha = Data kadar asam urat plasma tikus setelah perlakuan yang tidak bervariasi homogen

c. Uji Statistik : Uji *Levene*

d. Kriteria Uji :

Jika Signifikansi < 0,05, Ho ditolak

Jika Signifikansi > 0,05, Ho diterima

e. Hasil :

Tes Homogenitas

Sqrt

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,576	5	24	,053

Nilai signifikansi data-data pada tiap kelompok > 0,05

f. Kesimpulan : Ho diterima sehingga data kadar asam urat plasma tikus setelah perlakuan bervariasi homogen

Lampiran 9. Uji ANOVA (Analisis Varian Satu Arah) terhadap data kadar asam urat plasma tikus

a. Tujuan : untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang bermakna dari kadar asam urat darah tikus setiap kelompok perlakuan

b. Hipotesis :

Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap kadar asam urat plasma tikus tiap kelompok perlakuan

Ha = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap kadar asam urat plasma tikus tiap kelompok perlakuan

c. Uji Statistik : Uji F

d. Kriteria Uji :

Jika Signifikansi $< 0,05$, Ho ditolak

Jika Signifikansi $> 0,05$, Ho diterima

e. Hasil :

Sqrt

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3,809	5	,762	82.750	,000
Within Groups	,221	24	,009		
Total	4,030	29			

Nilai signifikansi $< 0,05$

f. Kesimpulan : Ho ditolak sehingga terdapat perbedaan yang bermakna terhadap kadar asam urat plasma tikus tiap kelompok perlakuan

Lampiran 10. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) antar seluruh kelompok uji

Sqrt

LSD

(I) Macam Dosis	(J) Macam Dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Bahan Uji 1	Bahan Uji 2	-.0263307	.0606825	.668	-.151573	.098912
	Bahan Uji 3	-.0249590	.0606825	.684	-.150202	.100284
	Pembanding	.6234934*	.0606825	.000	.498251	.748736
	Kontrol Perlakuan	-.1501403*	.0606825	.021	-.275383	-.024898
	Kontrol Normal	.7639545*	.0606825	.000	.638712	.889197
Bahan Uji 2	Bahan Uji 1	.0263307	.0606825	.668	-.098912	.151573
	Bahan Uji 3	.0013717	.0606825	.982	-.123871	.126614
	Pembanding	.6498241*	.0606825	.000	.524582	.775067
	Kontrol Perlakuan	-.1238096	.0606825	.052	-.249052	.001433
	Kontrol Normal	.7902852*	.0606825	.000	.665043	.915528
Bahan Uji 3	Bahan Uji 1	.0249590	.0606825	.684	-.100284	.150202
	Bahan Uji 2	-.0013717	.0606825	.982	-.126614	.123871
	Pembanding	.6484524*	.0606825	.000	.523210	.773695
	Kontrol Perlakuan	-.1251813	.0606825	.050	-.250424	.000061
	Kontrol Normal	.7889135*	.0606825	.000	.663671	.914156
Pembanding	Bahan Uji 1	-.6234934*	.0606825	.000	-.748736	-.498251
	Bahan Uji 2	-.6498241*	.0606825	.000	-.775067	-.524582
	Bahan Uji 3	-.6484524*	.0606825	.000	-.773695	-.523210
	Kontrol Perlakuan	-.7736337*	.0606825	.000	-.898876	-.648391
	Kontrol Normal	.1404611*	.0606825	.030	.015218	.265704
Kontrol Perlakuan	Bahan Uji 1	.1501403*	.0606825	.021	.024898	.275383
	Bahan Uji 2	.1238096	.0606825	.052	-.001433	.249052
	Bahan Uji 3	.1251813	.0606825	.050	-.000061	.250424
	Pembanding	.7736337*	.0606825	.000	.648391	.898876
	Kontrol Normal	.9140948*	.0606825	.000	.788852	1.039337
Kontrol Normal	Bahan Uji 1	-.7639545*	.0606825	.000	-.889197	-.638712
	Bahan Uji 2	-.7902852*	.0606825	.000	-.915528	-.665043
	Bahan Uji 3	-.7889135*	.0606825	.000	-.914156	-.663671
	Pembanding	-.1404611*	.0606825	.030	-.265704	-.015218
	Kontrol Perlakuan	-.9140948*	.0606825	.000	-1.039337	-.788852

Lampiran 11. Sertifikat analisis kalium oksonat

Certificate of Analysis

SIGMA-ALDRICH

Product Name	Oxonic acid potassium salt, 97%
Product Number	156124
Product Brand	ALDRICH
CAS Number	2207-75-2
Molecular Formula	C ₄ H ₂ KN ₃ O ₄
Molecular Weight	195.17

TEST	SPECIFICATION	LOT 0351000 RESULTS
APPEARANCE	WHITE TO OFF-WHITE POWDER AND/OR CHUNKS	OFF-WHITE POWDER
INFRARED SPECTRUM	CONFORMS TO STRUCTURE AND STANDARD AS	CONFORMS TO STRUCTURE AND STANDARD.
ELEMENTAL ANALYSIS	CARBON 23.7% - 25.5% NITROGEN 20.8% - 22.3%	CARBON 24.05% HYDROGEN 1.04% NITROGEN 21.14%
SOLUBILITY		50MG/ML, 5M HCL; CLEAR, COLORLESS SOLUTION
QUALITY CONTROL		APRIL 2001
ACCEPTANCE DATE		

Barbara Rejzer
Barbara Rejzer, Supervisor
Quality Control
Milwaukee, Wisconsin USA

Lampiran 12. Sertifikat analisis alopurinol

kimia farma

Plant Bandung

LAPORAN ANALISA BAHAN BAKU

Nama Bahan Baku : ALLOPURINOLUM	No. Batch :20110304 Exp. Date :24-03-2015	Kode Dok. : FQC-01-0022/00 Tgl. Berlaku : 26 Juli 2010
Kode Bahan :3012010 Origin :Nanjing - China No. LA :B110626 No. SP :P113161	Supplier :PT Parit Padang Tgl. Sampling :23-06-2011 Tgl. Selesai :12-07-2011	Jumlah :325 Kg Pemeriksa :Bambang No. BTBS :B110626

No.	PEMERIKSAAN	SPEKIFIKASI	HASIL
1	Pemerian (R)	Serbuk hablur warna putih hingga hampir putih, berbau lemah	Serbuk hablur warna putih, berbau lemah.
2	Kelarutan	Sangat sukar larut dalam air dan etanol, larut dalam kalium dan natrium hidroksida, praktis tidak larut dalam kloroform dan eter	Sesuai
3	Identifikasi (R)	a. Terbentuk endapan kuning. b. Serapan maksimum pd panjang gelombang 250 nm \pm 1,1	Sesuai
4	Kejernihan dan warna larutan	Larutan jernih, warna tidak lebih kuat dari larutan pembanding Y ₆ atau GY ₆	Sesuai
5	Susut pengeringan (R)	Tidak lebih dari 0,5%	0,01%
6	Kadar abu sulfat	Tidak lebih dari 0,1%	0,05%
7	Logam berat	Tidak lebih dari 20 bpj	Sesuai
8	Kadar dihitung terhadap zat anhidrat (R)	Antara 98,0% dan 101,0%	100,21%

Pustaka : BP 1993, USP 32

Kesimpulan : Memenuhi Syarat

Penanggung Jawab :
MPM

(Signature)
(Dra. Titin Supiamah)

Bandung, 13 Juli 2011

AMPM
(Signature)
(Dra. Endang Widiastuti)

Jl. Pajajaran No. 29 - 31
Bandung 40171
Indonesia
Telp. (022) 4204043, 4204044
Fax. (022) 4237079
Plantbdg@bdg.centrin.net.id

Lampiran 13. Surat keterangan hewan uji

 BAGIAN PRODUKSI TERNAK DAGING KERJA DAN ANEKA TERNAK
DEPARTEMEN ILMU PRODUKSI DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

Sekretariat : Jl. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680
Telepon : (0251) 8624774, Fax. (0251) 8624774

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dr. Ir. Asnath M. Fuah, MS

Jabatan : Kepala Bagian Produksi Ternak Daging Kerja dan Aneka Ternak

Alamat : Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga-Bogor

Telp. 0251-8624774, Fax. 0251-8624774

Menyatakan bahwa tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *spraque dawley* (SD) yang dikembangkan di Laboratorium Aneka Ternak, Fakultas Peternakan IPB, Telah memenuhi syarat sebagai hewan uji untuk penelitian atau kegiatan praktikum.

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenar-benarnya.

Bogor, 8 Maret 2012

Kepala Bagian
Produksi Ternak Daging, Kerja dan Aneka Ternak



 Dr. Ir. Asnath M. Fuah, MS
NIP.195410151979032001

Lampiran 14. Surat determinasi tanaman kedelai



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
 (Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
 (Research Center for Biology)

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
 Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 15 Februari 2012

Nomor : 170 /IPH.1.02/If.8/II/2012
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Rizki Jaka Gustiansyah
 Mhs. Univ. Indonesia

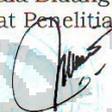
Dengan hormat,

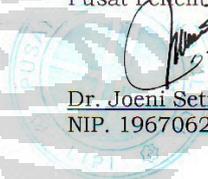
Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Kacang Kedelai	<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	Fabaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,


 Dr. Joeni Setijoe Rahajoe
 NIP. 196706241993032004



Page 1 of 1

D:\Ident 2012\Rizki Jaka Gustiansyah.doc\IS-DG

Lampiran 15. Data serapan sampel pada uji sebenarnya

Serapan Asam Urat (A)						
Data	Kelompok					
	KN	KP	Pembanding	Bahan Uji 1	Bahan Uji 2	Bahan Uji 3
1	0,006	0,072	0,013	0,054	0,056	0,062
2	0,011	0,078	0,013	0,051	0,052	0,054
3	0,009	0,072	0,021	0,053	0,063	0,070
4	0,014	0,054	0,017	0,055	0,064	0,046
5	0,008	0,057	0,011	0,054	0,044	0,047

Keterangan : KN = kontrol normal (larutan CMC 0,5% 3 mL/200 g bb), KP = kontrol perlakuan (larutan CMC 0,5% 3 mL/200 g bb), pembanding (suspensi alopurinol 36 mg/200 g bb), bahan uji 1 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 1 (2,25 g kacang kedelai/200 g bb/hari), bahan uji 2 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 2 (4,5 g kacang kedelai/200 g bb/hari), bahan uji 3 = bahan uji susu kacang kedelai dosis 3 (9 g kacang kedelai/200 g bb/hari).