



UNIVERSITAS INDONESIA

**EFEK EKSTRAK ETANOL 70% RIMPANG TEMU KUNCI
(*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter) TERHADAP
KADAR ASAM URAT DARAH TIKUS YANG
DIINDUKSI KALIUM OKSONAT**

SKRIPSI

**PUTRI WAHYU UTAMI
0806327976**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**EFEK EKSTRAK ETANOL 70% RIMPANG TEMU KUNCI
(*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter) TERHADAP
KADAR ASAM URAT DARAH TIKUS YANG
DIINDUKSI KALIUM OKSONAT**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi

**PUTRI WAHYU UTAMI
0806327976**

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

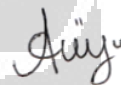
ii

SURAT 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



Putri Wahyu Utami

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Putri Wahyu Utami

NPM : 0806327976

Tanda Tangan : 

Tanggal : 13 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh:

Nama : Putri Wahyu Utami
NPM : 0806327976
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Efek Ekstrak Etanol 70% Rimpang Temu Kunci
(*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter)
Terhadap Kadar Asam Urat Darah Tikus 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 : Santi Purna Sari, S.Si., M.Si. (.....)

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 kepada Allah SWT yang senantiasa mencurahkan nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penelitian dan penyusunan skripsi ini, yaitu kepada:

1. Dra. Juheini Amin, M.Si., Apt. dan Santi Purna Sari, S.Si., M.Si. selaku pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dan saran dalam penelitian dan penyusunan skripsi;
2. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., Apt. selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian;
3. Prof. Dr. Effionora Anwar, M.S., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan saran dan ijin kepada penulis untuk dapat melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini;
4. Dra. Retnosari Andrajati, M.S., Ph.D., Apt. selaku kepala Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan bimbingan, nasehat, saran, dan izin untuk melaksanakan penelitian di laboratorium Farmakologi;
5. PT. Kimia Farma yang telah memberikan alopurinol untuk penelitian ini;
6. Seluruh dosen pengajar, laboran, dan staf karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu kelancaran dalam perkuliahan, penelitian, dan penyusunan skripsi ini;
7. Ibu, ayah, adik-adik, dan seluruh keluarga besar penulis yang selalu memberikan doa, kasih sayang, semangat, nasehat, dan dukungan material;
8. Rekan penelitian penulis, Yiska, Jaka, dan Grace yang telah banyak membantu sehingga setiap pekerjaan menjadi lebih mudah ketika dikerjakan bersama-sama dan teman-teman KBI Farmakologi yang selalu memberikan semangat, dukungan, dan menjadi teman diskusi selama melaksanakan penelitian ini;

9. Teman-teman farmasi angkatan 2008 yang telah berjuang dan menghabiskan waktu bersama di farmasi sehingga membuat masa-masa perkuliahan menjadi menyenangkan; serta
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah turut serta menjadi bagian selama perkuliahan, penelitian, dan penulisan skripsi ini.

Penulis berharap Allah SWT membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan skripsi. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu farmasi.



Penulis,
2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Putri Wahyu Utami
NPM : 0806327976
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

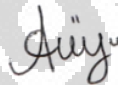
demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Efek Ekstrak Etanol 70% Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter) terhadap Kadar Asam Urat Darah Tikus yang Diinduksi Kalium 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



(Putri Wahyu Utami)

ABSTRAK

Nama : Putri Wahyu Utami
Program Studi : Farmasi
Judul : Efek Ekstrak Etanol 70% Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter) terhadap Kadar Asam Urat Darah Tikus yang Diinduksi Kalium Oksonat

Hiperurisemia merupakan kondisi peningkatan kadar asam urat darah melebihi normal. Alopurinol adalah obat konvensional yang sering digunakan untuk menurunkan kadar asam urat, namun memiliki banyak efek samping. Salah satu tanaman yang diduga memiliki efek penurunan kadar asam urat darah adalah rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci terhadap penurunan kadar asam urat darah tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat. Sebanyak 30 ekor tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley* dengan berat 150-200 gram dibagi secara acak kedalam enam kelompok, yaitu kelompok uji dengan dosis 40, 60, dan 90 mg/200 g bb, alopurinol 36 mg/200 g bb sebagai kelompok pembanding obat, kalium oksonat 50 mg/200 g bb sebagai kontrol induksi, dan larutan CMC 0,5% sebagai kontrol normal. Semua kelompok diberi perlakuan selama delapan hari, kemudian dilakukan induksi kalium oksonat secara intraperitoneal, kecuali kelompok normal. Pengambilan darah melalui sinus orbital mata pada dua jam setelah induksi. Pengukuran kadar asam urat plasma dilakukan dengan metode kolorimetrik enzimatis menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci dosis 40 mg/200 g bb memiliki persentase penurunan kadar asam urat darah terbesar, yaitu 56,84%.

Kata kunci : Asam Urat, *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter, Hiperurisemia, Kalium Oksonat, Temu Kunci.

xv + 73 halaman : 12 gambar; 14 tabel; 15 lampiran

Daftar Pustaka : 46 (1978-2011)

ABSTRACT

Name : Putri Wahyu Utami
Programe Study : Pharmacy
Title : The Effect of 70% Ethanolic Extract of Fingerroot (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter) on Plasma Uric Acid Level of Rats Induced by Potassium Oxonate.

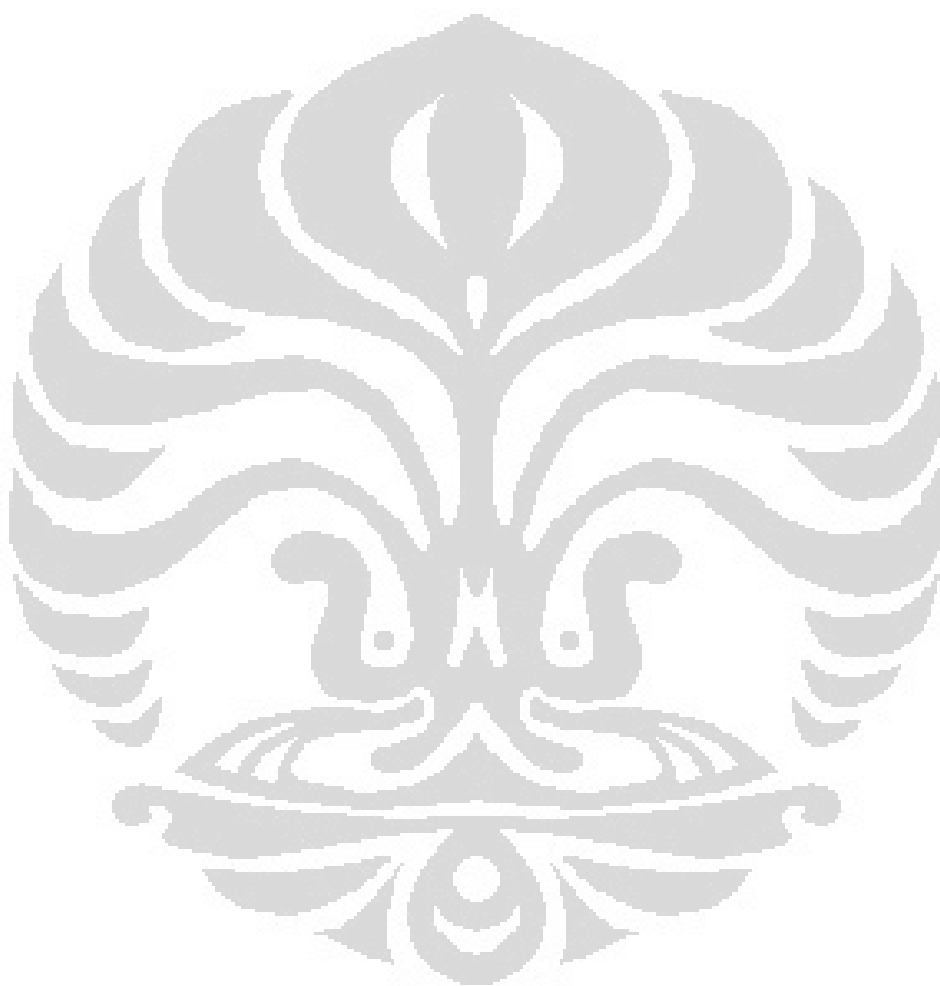
Hyperuricemia is a condition that shown by uric acid level in blood is higher than normal. Alopurinol is a synthetic drug which is commonly used as an uric acid lowering agent, however it has a lot of adverse effects. Fingerroot (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter) is a plant that was estimated has an effect to lower blood uric acid level. The aim of this study was to determine the effect of 70% ethanolic extract of fingerroot, observed by decrease of blood uric acid level in male white rats induced by potassium oxonate. Thirty male white rats of *Sprague-Dawley* strain weight 150-200 grams were randomly divided into six groups: the treatment groups were given doses of 40, 60, and 90 mg/200 g bw, alopurinol 36 mg/200 g bw as a drug comparison group, potassium oxonate 50 mg/200 g bw as an induction control, and 0.5% CMC solution as a normal control. All group were treated for eight days, then given intraperitoneal administration of potassium oxonate, except the normal group. Whole blood samples were collected from orbital sinus two hours after induced. Plasma uric acid level was measured using colorimetric-enzymatic method by UV-Vis spectrophotometer at 520 nm wavelength. The results showed that 70% ethanolic extract of fingerroot at dose of 40 mg/200 g bw have a highest percentage of lowering plasma uric acid level is 56.84%.

Key Words : *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter, Fingerroot, Hyperuricemia, Potassium Oxonate, Uric Acid.
xv + 73 pages : 12 pictures; 14 tables; 15 appendices
Bibliography : 46 (1978-2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	viii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Pendahuluan.....	1
1.2 Rumusan Masalah dan Ruang Lingkup Penelitian.....	2
1.3 Jenis dan Metode Penelitian.....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.5 Hipotesis.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 <i>Boesenbergia pandurata</i> (Roxb.) Schlechter.....	4
2.2 Asam Urat.....	6
2.3 Kalium Oksonat.....	12
2.4 Teknologi Ekstraksi.....	12
2.5 Skrining Fitokimia Ekstrak Secara Kualitatif.....	15
2.6 Standardisasi Ekstrak.....	15
2.7 Metode Pengukuran Kadar Asam Urat.....	17
3. METODE PENELITIAN.....	18
3.1 Tempat dan Waktu.....	18
3.2 Alat.....	18
3.3 Bahan.....	18
3.4 Prosedur Penelitian.....	19
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
4.1 Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Rimpang Temu Kunci.....	31
4.2 Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Temu Kunci.....	32
4.3 Standardisasi Ekstrak Etanol 70% Rimpang Temu Kunci.....	32
4.4 Penetapan Dosis Penginduksi dan Ekstrak.....	33
4.5 Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Rimpang Temu Kunci.....	33

5. KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Kesimpulan.....	42
5.2 Saran.....	42
DAFTAR ACUAN	43



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Pembentukan asam urat dari nukleosida purin.....	47
Gambar 2.2.	Mekanisme kerja alopurinol dalam menghambat xantin oksidase.....	48
Gambar 2.3.	Struktur kalium oksonat.....	48
Gambar 2.4.	Mekanisme aksi kalium oksonat meningkatkan kadar asam urat.....	49
Gambar 2.5.	Reaksi pada pengukuran kadar asam urat dengan metode kolorimetri enzimatis.....	49
Gambar 3.1.	Rimpang temu kunci.....	50
Gambar 3.2.	Serbuk simplisia rimpang temu kunci.....	50
Gambar 4.1.	Penurunan kadar asam urat rata-rata semua kelompok dosis dan pembanding obat alopurinol pada uji sebenarnya dibandingkan dengan kelompok normal.....	40
Gambar 4.2.	Efektivitas penurunan kadar asam urat rata-rata semua kelompok dosis pada uji sebenarnya dibandingkan dengan kelompok pembanding obat alopurinol.....	41
Gambar 4.3.	Ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci.....	51
Gambar 4.4.	Pengambilan darah melalui sinus orbital mata.....	51
Gambar 4.5.	Kadar asam urat rata-rata semua kelompok pada hari kedelapan uji sebenarnya.....	52

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1.	Pembagian Kelompok dan Perlakuan pada Uji Pendahuluan Dosis Kalium Oksonat.....	26
Tabel 3.2.	Pembagian Kelompok dan Perlakuan pada Uji Pendahuluan Dosis Ekstrak	27
Tabel 3.3.	Pembagian Kelompok dan Perlakuan pada Uji Sebenarnya.....	28
Tabel 4.1.	Kadar Asam Urat Rata-rata Semua Kelompok pada Optimasi Dosis Kalium Oksonat.....	35
Tabel 4.2.	Kadar Asam Urat Rata-rata Semua Kelompok pada Hari Kedelapan Uji Pendahuluan Dosis.....	37
Tabel 4.3.	Kadar Asam Urat Rata-rata Semua Kelompok pada Hari Kedelapan Uji Sebenarnya.....	38
Tabel 4.4.	Hasil Skrining Fitokimia.....	53
Tabel 4.5.	Susut Pengeringan Ekstrak.....	54
Tabel 4.6.	Kadar Abu Total.....	54
Tabel 4.7.	Data Hasil Pengukuran Kadar Asam Urat Semua Kelompok pada Optimasi Dosis Kalium Oksonat.....	55
Tabel 4.8.	Data Hasil Pengukuran Kadar Asam Urat Semua Kelompok pada Hari Kedelapan Uji Pendahuluan Dosis.....	55
Tabel 4.9.	Data Hasil Pengukuran Kadar Asam Urat Semua Kelompok pada Hari Kedelapan Uji Sebenarnya.....	56
Tabel 4.10.	Persentase Penurunan Kadar Asam Urat Rata-Rata Kelompok Dosis dan Pembanding Alopurinol Uji Sebenarnya Dibandingkan dengan Kelompok Normal.....	57
Tabel 4.11.	Persentase Efektivitas Penurunan Kadar Asam Urat Rata-Rata Kelompok Dosis Uji Sebenarnya Dibandingkan dengan Kelompok Pembanding Alopurinol.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Determinasi Tanaman Temu Kunci.....	58
Lampiran 2.	Surat Keterangan Tikus Putih Galur <i>Sprague-Dawley</i>	59
Lampiran 3.	Sertifikasi Analisis Alopurinol.....	60
Lampiran 4.	Kandungan Pereaksi Asam Urat Randox	61
Lampiran 5.	Perhitungan Susut Pengeringan Ekstrak.....	62
Lampiran 6.	Perhitungan Kadar Abu Total Ekstrak	63
Lampiran 7.	Perhitungan Dosis pada Uji Pendahuluan Dosis	64
Lampiran 8.	Perhitungan Dosis pada Uji Sebenarnya	65
Lampiran 9.	Pembuatan Sediaan Uji Pada Uji Sebenarnya	66
Lampiran 10.	Perhitungan Penurunan Kadar Asam Urat Kelompok Dosis dan Pembanding Alopurinol Terhadap Kontrol Normal.....	67
Lampiran 11.	Perhitungan Persentase Efektivitas Penurunan Kadar Asam Urat Kelompok Dosis Terhadap Pembanding Alopurinol.....	68
Lampiran 12.	Uji Normalitas <i>Saphiro-Wilk</i> Terhadap Data Kadar Asam Urat Plasma Tikus.....	69
Lampiran 13.	Uji Homogenitas (Uji <i>Levene</i>) Terhadap Data Kadar Asam Urat Plasma Tikus.....	70
Lampiran 14.	Uji ANOVA Analisis Varian Satu Arah Terhadap Data Kadar Asam Urat Plasma Tikus.....	71
Lampiran 15.	Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Terhadap Seluruh Kelompok Uji.....	72

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Peningkatan kadar asam urat darah dikenal sebagai hiperurisemia. Asam urat merupakan hasil akhir dari metabolisme purin, yaitu suatu produk sisa yang tidak mempunyai peran fisiologi. Peningkatan kadar asam urat dalam darah hingga melebihi 6,8 mg/dL pada pria dan 6,0 mg/dL pada wanita dapat dikatakan sebagai kondisi hiperurisemia (Ernst & Clark, 2011).

Hiperurisemia merupakan salah satu gejala klinis dari penyakit gout yang merupakan penyakit dengan prevalensi yang meningkat di seluruh dunia. Para ilmuwan memperkirakan bahwa 6 juta orang yang berusia diatas 20 tahun telah menderita gout. Pria yang berusia 40-50 tahun akan cenderung lebih mudah terserang gout daripada wanita (National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Disease, 2010). Hal ini dikarenakan wanita memiliki hormon estrogen yang berefek urikosurik sehingga dapat membantu ekskresi asam urat melalui urin (Neogi, 2011).

Peningkatan kadar asam urat hingga melewati batas kelarutannya dapat menyebabkan terjadinya penimbunan kristal monosodium urat (MSU) pada persendian dan jaringan lunak yang dapat memicu terjadinya rasa nyeri, bengkak, dan panas pada daerah persendian (Ernst & Clark, 2011). Gejala ini dapat diatasi dengan pemberian obat-obatan yang dapat menghilangkan nyeri, menurunkan produksi asam urat, atau meningkatkan ekskresinya melalui urin (Katzung, Masters, & Trevor, 2009).

Obat konvensional yang sering menjadi pilihan dalam menurunkan kadar asam urat adalah alopurinol, namun obat ini memiliki efek samping berupa gangguan saluran cerna, reaksi kulit yang dapat menjadi lebih berat, dan juga reaksi obat yang tidak diinginkan lainnya (Wilmana, 2007). Berbagai upaya dilakukan untuk mengurangi efek samping yang mungkin ditimbulkan obat sintetik ini, salah satunya dengan penggunaan obat dari bahan alam. Apabila dibandingkan dengan obat konvensional, penggunaan obat bahan alam lebih aman karena memiliki efek samping yang relatif lebih kecil jika digunakan secara tepat (Katno, 2008).

Keanekaragaman budaya tanaman Indonesia, terutama golongan rempah-rempah telah lama digunakan secara tradisional dalam mengobati banyak penyakit. Tanaman obat merupakan sumber yang penting bagi pengembangan obat herbal, nutrasetika, dan sumber obat baru lainnya. Salah satu tanaman berkhasiat yang berasal dari rempah-rempah Indonesia adalah rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter) yang telah banyak digunakan dalam kehidupan sehari-hari sebagai bumbu masak (Rukmana, 2008).

Rimpang temu kunci dalam kehidupan masyarakat juga memiliki khasiat sebagai obat, yaitu untuk mengobati rematik, radang lambung, radang selaput lendir, peluruh air seni, malaria, gangguan usus besar, perut kembung, penyakit kulit, diare, sariawan, dan cacingan (Rukmana, 2008). Penelitian sebagai antiinflamasi melalui mekanisme penghambatan siklooksigenase 2 telah dibuktikan secara *in vitro* dengan menggunakan sel RAW 264.7 (Yun, Kwon, & Hwang, 2003).

Penelitian secara *in vitro* yang dilakukan di Institut Pertanian Bogor melalui pengujian terhadap aktivitas xantin oksidase menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% dari rimpang temu kunci dapat menghambat xantin oksidase (Darusman, Heryanto, Rafi, & Wahyuni, 2007). Sampai saat ini, penelitian hingga tahap pengujian *in vivo* belum dilakukan, maka pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci terhadap penurunan kadar asam urat darah tikus putih jantan yang dibuat hiperurisemia. Hasil dari penelitian ini, diharapkan dapat menemukan suatu obat herbal baru yang poten bagi penderita asam urat.

1.2 Rumusan Masalah dan Ruang Lingkup Penelitian

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter) dapat menurunkan kadar asam urat darah pada tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat. Ruang lingkup penelitian ini mencakup bidang ilmu Farmakologi dan Fitokimia.

1.3 Jenis dan Metode Penelitian

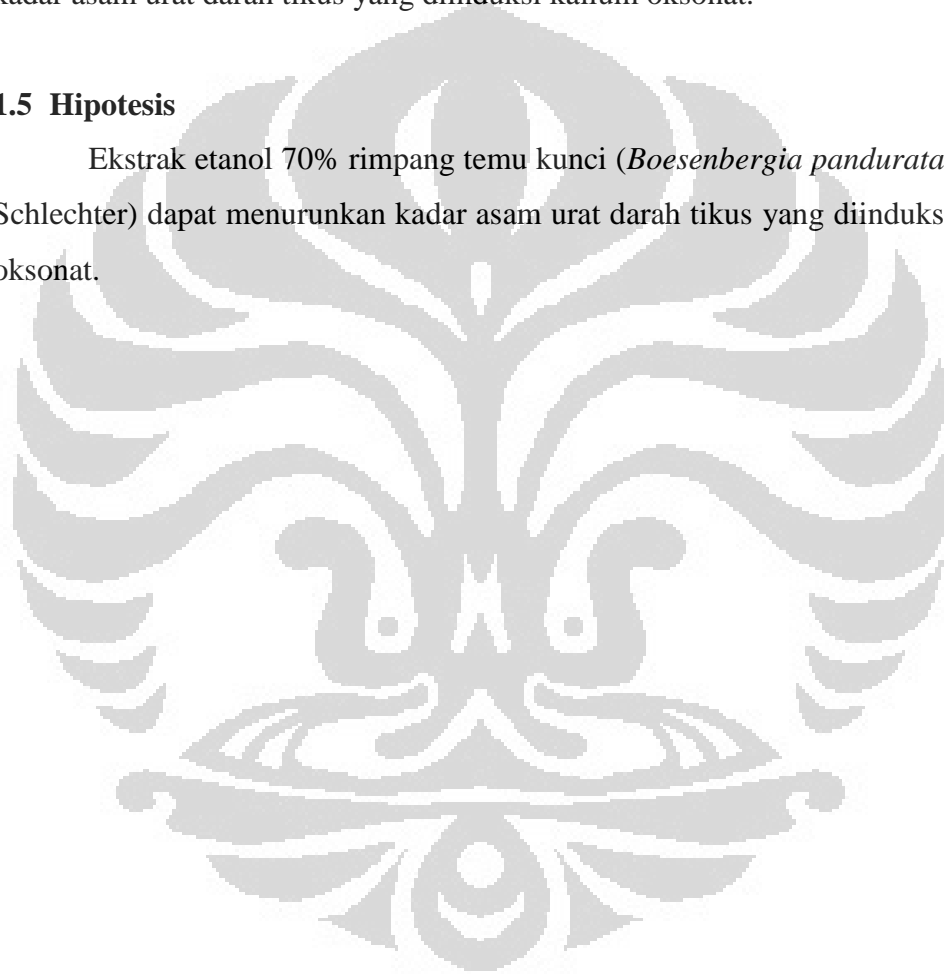
Penelitian bersifat eksperimental menggunakan ekstrak tanaman yang diberikan pada hewan uji yang dibuat hiperurisemia.

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek pemberian ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter) terhadap kadar asam urat darah tikus yang diinduksi kalium oksonat.

1.5 Hipotesis

Ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter) dapat menurunkan kadar asam urat darah tikus yang diinduksi kalium oksonat.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter

2.1.1 Klasifikasi dan tata nama

2.1.1.1 Klasifikasi

Kerajaan	: Plantae
Subkerajaan	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: <i>Boesenbergia</i>
Jenis	: <i>Boesenbergia pandurata</i> (Roxb.) Schlechter
Sinonim	: <i>Boesenbergia rotunda</i> (L.) Mansf. <i>Kaempferia pandurata</i> (Roxb.) <i>Gastrochilus pandurata</i> (Roxb.) Ridley <i>Curcuma rotunda</i> L.

(Herbarium Bandungense ITB, n.d.; USDA, 2000)

2.1.1.2 Nama daerah (Rukmana, 2008)

Temu Kunci (Melayu, Sunda), Tamu kunci (Minangkabau), Kunci (Jawa), koncih (Sumatera), Konce (Madura), Dumu kunci (Bima), Tamu Konci (Makasar), Konsih atau kangean (Ambon), Anipa Wakang (Hila-Alfuru), Anipa Wakang, Uni Noiwo, Uni Rawu, atau Aruhu Konci (Haruku), Sun (Buru), Rutu Kakuzi atau Enesitale (Seram), Tamputi (Ternate), dan Temu Konci (Bugis).

2.1.1.3 Nama asing (Geonadi, Fitria, Ayu, Sulistyorini, & Asyiah, n.d.)

Fingerroot (Inggris), Krachai (Thailand), Chinese Ginger, Ginger key, atau Chinese Key (Cina).

2.1.2 Deskripsi (Rukmana, 2008)

Tanaman temu kunci termasuk tanaman terna dengan ketinggian mencapai 13,5 cm. Daun tanaman berwarna hijau, helaian daun tegak, berbentuk lanset dengan ujung daun lancip, dan berukuran panjang 21,4 cm dan lebar 10,1 cm. Pelepah daun berwarna merah. Jumlah daun sekitar lima helai setiap pohon

Kelopak bunga berwarna ungu dengan ujung bagian atas berwarna merah. Bunga muncul dari ketiak daun, pada bagian atas berwarna ungu, sedangkan pada bagian bawah berwarna putih.

Rimpang berbentuk bulat dikelilingi oleh anak-anak rimpang yang berbentuk agak memanjang dengan ujung gemuk. Kulit rimpang berwarna putih kotor, sedangkan daging berwarna kuning muda, berasa enak, dan berbau harum. Kedalaman rimpang mencapai 4,5 cm dan panjang akar 19,8 cm. Ketebalan rimpang muda 0,76 cm dan ketebalan rimpang tua 1,73 cm. Jumlah rimpang muda setiap rumpun sekitar duabelas, sedangkan jumlah rimpang tua sekitar sembilan.

2.1.3 Kandungan kimia

Rimpang temu kunci mengandung minyak atsiri berupa 1,8-sineol, kamfer, borneol, pinnen, seskuiterpen, zingiberon, curcumin, dan zeodarin (Rukmana, 2008). Kandungan lainnya berupa kardamonin, pinosembrin (5,7-dihidroksiflavan), pinostrobin (5-hidroksi-7-metoksiflavanon), panduratin A, dan 4-hidroksipanduratin (Trakoontivakorn, et al, 2001; Tuchinda, et al., 2002).

Selain itu, rimpang temu kunci juga mengandung pati, damar, saponin, boesenbergin A, boesenbergin B, asam kavinat, senyawa flavon (5,7-dimetoksiflavan; 3,5,7,4-tetrametoksiflavan; dan 3,5,7,3,4-pentametoksiflavan), senyawa flavanon (5-hidroksi-7,4-dimetoksiflavanon), senyawa kalkon (2-hidroksi-4,6-dimetoksikalkon; 2,6-dihidroksi-4-metoksikalkon; 2-hidroksi-4,4,6-trimetoksikalkon; dan 2,4-dihidroksi-6-metoksikalkon), panduratin B1, serta panduratin B2 (Hargono, 2000).

2.1.4 Khasiat

Secara umum, rimpang temu kunci berkhasiat dalam mengobati penyakit rematik, radang lambung, radang selaput lendir, peluruh air seni, malaria,

sariawan, batuk kering, diare, cacingan, perut kembung, gangguan pada usus besar, penyakit kulit, dan tonikum (Rukmana, 2008). Selain bersifat analgetik (mengurangi rasa sakit), temu kunci juga berguna untuk mengobati radang indung telur (Muhlisah, 1999).

Selain di Indonesia, di negara lain juga banyak yang telah memanfaatkan rimpang temu kunci. Di Thailand, biasa digunakan sebagai bumbu masak. Selain itu, juga digunakan sebagai obat peningkat gairah, kolik, disentri, antiinflamasi, antibakteri, antitumor, diare, antikembung, serta menjaga kesehatan tubuh (Tewtrakul, Subhadhirasakul, Karalai, Ponglimanont, & Cheenpracha, 2009; Tuchinda, et al., 2009; Geonadi, Fitria, Ayu, Sulistyorini, & Asyiah, n.d.). Di Malaysia, digunakan sebagai obat sakit perut, tonik pada wanita pasca melahirkan, serta dicampurkan dalam lotion untuk mengobati rematik dan nyeri otot (Ching, Wah, Sukari, Lian, Rahmani, & Khalid, 2007; Geonadi, Fitria, Ayu, Sulistyorini, & Asyiah, n.d.). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa rimpang temu kunci dapat digunakan sebagai obat kanker (Sohn, Han, Lee, & Hwang, 2005).

2.2 Asam Urat

Asam urat dengan rumus molekul $C_5H_4N_4O_3$ merupakan kristal putih, tidak berbau dan tidak berasa, mengalami dekomposisi dengan adanya pemanasan menjadi asam sianida (HCN), sangat sukar larut dalam air, larut dalam gliserin dan alkali. Asam urat dapat larut dalam larutan dengan pH tinggi dan dapat pula dipanaskan hingga suhu $60^{\circ}C$ untuk membantu kelarutannya (Rinaudo & Boistelle, 1982).

Natrium urat adalah kristal yang terbentuk akibat tingginya konsentrasi asam urat dalam darah. Kristal natrium urat terkumpul pada daerah persendian dan tulang rawan. Natrium urat juga sukar larut dalam air. Faktor yang memengaruhi pembentukan kristal natrium urat, yaitu pH, suhu, kekuatan ionik, dan konsentrasi Na^+ . Bentuk geometris kristal natrium urat adalah triklin atau berbentuk jarum (Rinaudo & Boistelle, 1982).

Asam urat memiliki dua bentuk, yaitu asam urat eksogen maupun endogen. Asam urat eksogen berasal dari purin yang terdapat di dalam makanan yang dikonsumsi yang masuk ke dalam tubuh. Purin diproduksi dari tiga sumber,

yaitu makanan yang mengandung purin, konversi asam nukleat jaringan menjadi nukleosida purin, dan sintesis *de novo* dari basa purin (Ernst & Clark, 2011).

Di dalam tubuh manusia, nukleotida purin mengalami pelepasan satu gugus fosfat oleh enzim fosfomonoesterase menjadi bentuk nukleosidanya, yaitu adenosin dan guanosin. Nukleosida ini selanjutnya secara bertahap akan diubah menjadi asam urat. Adenosin akan mengalami deaminasi oleh adenosin deaminase membentuk inosin. Pada inosin dan guanosin akan terjadi peristiwa fosforilasi ikatan N-glikosidat dengan melepaskan senyawa ribosa 1-fosfat dan basa purin (hipoxantin dan guanin). Selanjutnya, terjadi pembentukan senyawa xantin dari hipoxantin yang dikatalisis oleh xantin oksidase dan guanin yang dikatalisis oleh guanase. Xantin yang terbentuk akan teroksidasi menjadi asam urat dengan katalisator yang sama, yaitu xantin oksidase (Ernst & Clark, 2011; Rodwell, 2006). Gambar 2.1 akan menjelaskan secara terperinci proses pembentukan asam urat dari nukleosida purin.

Asam urat merupakan hasil akhir dari metabolisme purin pada manusia, yaitu suatu produk sisa yang tidak mempunyai peran fisiologi. Manusia tidak memiliki urikase yang akan menguraikan asam urat menjadi alantoin yang mudah larut dalam air (Ernst & Clark, 2011).

Asam urat tidak terakumulasi dalam tubuh selama produksi dan eliminasinya seimbang. Asam urat dieliminasi dari dalam tubuh melalui dua jalur, yaitu sekitar duapertiga dari total asam urat dalam tubuh diekskresi melalui urin dan sisanya dieliminasi melalui saluran pencernaan setelah terlebih dahulu mengalami degradasi secara enzimatik oleh koloni bakteri usus (Ernst & Clark, 2011).

Kadar normal asam urat dalam tubuh manusia dengan fungsi ginjal normal dan diet bebas purin adalah 600 mg per hari. Kadar ini akan meningkat pada penderita gout maupun hiperurisemia (Pittman & Bross, 1999). Nilai normal asam urat dalam darah pada pria adalah $5,1 \pm 1,0$ mg/dL dan pada wanita adalah $4,0 \pm 1,0$ mg/dL (Carter, 2006).

2.2.1 Hiperurisemia

Peningkatan kadar asam urat dalam darah hingga melebihi 6,8 mg/dL pada pria dan 6,0 mg/dL pada wanita disebut sebagai kondisi hiperurisemia (Ernst & Clark, 2011). Pada konsentrasi 8 mg/dL atau lebih, monosodium urat lebih cenderung mengendap di jaringan. Pada pH 7 atau lebih, asam urat terdapat dalam bentuk monosodium urat (Pittman & Bross, 1999). Dalam menentukan risiko terjadinya gout, hiperurisemia didefinisikan sebagai kondisi konsentrasi asam urat yang supersaturasi dengan peningkatan kadar asam urat melebihi 7,0 mg/dL (Ernst & Clark, 2011).

Peningkatan yang berlebihan dapat berasal dari produksinya yang berlebihan atau ekskresinya yang berkurang. Meskipun asupan purin berlebihan, dalam keadaan ginjal yang normal, seharusnya asam urat dapat diekskresikan. Pada kebanyakan pasien gout (75-90%), klirens asam urat oleh ginjal sangat menurun (Bandolier, 2007).

Hiperurisemia dapat dibedakan menjadi hiperurisemia primer, sekunder, dan idiopatik. Hiperurisemia primer disebabkan bukan dari penyakit, tetapi terjadi akibat produksi asam urat yang berlebihan atau ekskresinya yang berkurang. Hiperurisemia sekunder disebabkan oleh penyakit atau penyebab lain. Hiperurisemia idiopatik adalah hiperurisemia yang belum jelas penyebabnya dan tidak terdapat kelainan anatomi dan fisiologi yang jelas, dapat berupa kelainan genetik. (Putra, 2006).

Rata-rata manusia membentuk sekitar 600-800 mg asam urat per hari dan mengekskresikan sekitar 600 mg per hari. Individu yang mengekskresikan asam urat lebih dari 700 mg per hari diklasifikasikan sebagai *overproduction*, sedangkan jika kurang dari 600 mg per hari diklasifikasikan sebagai *underexcretion* (Ernst & Clark, 2011).

2.2.2 Gout

Gout adalah penyakit heterogen yang meliputi hiperurisemia, serangan berulang arthritis akut akibat kristal monosodium urat di cairan sinovial sendi, deposit kristal monosodium urat dalam jaringan dan tulang rawan (tofi), penyakit

nefropati gout, dan nefrolitiasis asam urat (Ernst & Clark, 2011; Katzung, Masters, & Trevor, 2009).

Gout terbagi menjadi gout primer dan gout sekunder. Gout primer terjadi akibat kelainan bawaan dan biasanya berkembang pada laki-laki usia 30-60 tahun, sedangkan gout sekunder terjadi akibat penggunaan obat-obatan seperti terapi diuretik kronik dan biasanya terjadi pada usia diatas 65 tahun (Bandolier, 2007).

Tanda dan gejala dari gout, antara lain demam, sakit yang berulang terutama pada bagian sendi, kemerahan, pembengkakan dan peradangan pada satu atau lebih daerah sendi (Ernst & Clark, 2011). Apabila tidak segera diobati, penyakit ini dapat berkembang dalam empat tahap, yaitu (National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases, 2010):

a. Hiperurisemia asimtomatik

Pada tahap ini, kadar asam urat dalam darah meningkat, tetapi tidak ada gejala sehingga pasien belum membutuhkan pengobatan. Hiperurisemia dapat ditemukan beberapa tahun sebelum serangan. Peningkatan asam urat biasanya terlihat pada laki-laki setelah puber dan perempuan setelah menopause. Walau tidak semua pasien dengan hiperurisemia akan mendapat serangan, tetapi pasien perlu waspada.

b. Arthritis gout akut (*Acute gouty arthritis*)

Pada tahap ini, hiperurisemia menyebabkan pengendapan kristal asam urat pada daerah persendian yang menyebabkan rasa nyeri yang berulang dan mendadak, bengkak di sendi, serta rasa hangat dan peka terhadap sentuhan. Serangan akut biasanya terjadi malam hari dan dapat dipicu oleh keadaan stres, konsumsi alkohol atau obat, atau adanya penyakit lain. Serangan biasanya berhenti dalam 3-10 hari, meskipun tanpa pengobatan dan serangan berikutnya mungkin tidak akan terjadi dalam beberapa bulan bahkan beberapa tahun.

c. Gout Interkritikal

Tahap ini adalah saat di antara serangan akut, tidak terdapat gejala dan pasien merasakan fungsi sendi yang normal.

d. Gout tofi kronis (*Chronic tophaceous gout*)

Tahap ini adalah tahap yang paling menyebabkan ketidakmampuan dan biasanya dapat terus berkembang hingga mengakibatkan kerusakan sendi yang

permanen dan terkadang juga merusak ginjal. Kebanyakan pasien gout tidak akan sampai pada tahap ini jika diberikan pengobatan yang benar.

2.2.2.1 Pengobatan Gout

Tujuan dari pengobatan adalah untuk menghentikan serangan akut, mencegah serangan kembali, dan mencegah komplikasi yang berkaitan dengan deposit kristal asam urat kronis di jaringan (Ernst & Clark, 2011; Katzung, Masters, & Trevor, 2009). Golongan obat gout terbagi atas dua kelompok, yaitu obat yang menghentikan proses inflamasi akut dan obat yang memengaruhi kadar asam urat (Wilmana, 2007).

Obat-obat yang memengaruhi kadar asam urat dalam darah dibagi menjadi dua berdasarkan cara kerjanya, yaitu golongan urikostatik (inhibitor xantin oksidase) dan golongan urikosurik. Golongan obat-obat ini tidak berguna dalam mengatasi serangan klinis dan terkadang dapat meningkatkan frekuensi serangan pada awal terapi (Wilmana, 2007).

a. Obat yang menghentikan proses inflamasi akut (Wilmana, 2007)

Kolkisin merupakan suatu antiinflamasi yang memiliki sifat antiradang yang spesifik hanya untuk penyakit gout dan arthritis lainnya. Kolkisin tidak meningkatkan ekskresi, sintesis, maupun kadar asam urat dalam darah. Obat ini bekerja dengan mencegah pelepasan glikoprotein dari leukosit yang dapat menyebabkan nyeri dan radang sendi pada penderita gout.

Pemberian kolkisin harus dimulai secepatnya pada awal serangan dan diteruskan sampai gejala hilang. Obat ini juga dapat mencegah serangan yang dicetuskan oleh obat urikosurik dan urikostatik melalui pemberian dosis kecil sebagai profilaksis.

b. Obat golongan urikostatik (inhibitor xantin oksidase)

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. Mobilisasinya dapat ditingkatkan dengan pemberian urikosurik (Wilmana, 2007).

Alopurinol bekerja dengan menghambat xantin oksidase yang dapat mengubah hipoxantin menjadi xantin dan selanjutnya menjadi asam urat (Gambar 2.2.) Obat ini menghambat sintesis purin yang merupakan prekursor xantin melalui mekanisme umpan balik. Alopurinol akan mengalami metabolisme oleh xantin oksidase menjadi aloksantin yang memiliki waktu paruh lebih panjang daripada alopurinol. Oleh karena itu, alopurinol cukup diberikan satu kali sehari (Katzung, Masters, & Trevor, 2009; Wilmana, 2007).

Risiko timbulnya serangan gout akut pada awal pengobatan dapat dihindari dengan pemakaian dosis awal yang rendah, yaitu 50-100 mg dan ditingkatkan bila perlu. Kolkisin atau NSAID ditambahkan sebagai pencegahan terjadinya radang akut. Dosis 50-600 mg perhari digunakan untuk mengurangi kadar asam urat. Kadar asam urat dalam serum akan kembali normal dalam waktu 4 minggu dan serangan gout akut akan berhenti dalam 6 bulan dengan terapi yang kontinu. Reduksi tofi memakan waktu bertahun-tahun. Kadang-kadang dosis dibutuhkan hingga 900 mg (Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik, 2006).

c. Obat golongan urikosurik

Obat golongan ini menurunkan kadar asam urat melalui peningkatan ekskresi asam urat dengan menghambat reabsorpsi asam urat di tubulus ginjal. Mekanisme kerja obat ini memungkinkan terjadinya pembentukan batu ginjal atau batu urat di saluran kemih. Untuk menghindari terjadinya hal ini, terapi dengan obat-obat urikosurik sebaiknya dimulai dengan dosis awal yang rendah dan ditingkatkan secara perlahan-lahan. Obat yang biasa digunakan adalah probenesid dan sulfinpirazon (Ernst & Clark, 2011).

Efek dari probenesid adalah mencegah dan mengurangi kerusakan sendi serta pembentukan tofi, tetapi tidak efektif untuk mengatasi serangan akut. Obat ini juga bermanfaat dalam pengobatan hiperurisemia sekunder (Wilmana, 2007).

Sulfinpirazon dapat mencegah dan mengurangi kelainan sendi dan tofi pada penyakit gout kronik berdasarkan hambatan reabsorpsi asam urat di tubulus. Obat ini kurang efektif dalam menurunkan kadar asam urat dibandingkan alopurinol dan dapat meningkatkan frekuensi serangan pada awal terapi (Wilmana, 2007).

2.3 Kalium Oksonat

Senyawa yang merupakan inhibitor urikase atau urat oksidase yang dapat menginduksi terjadinya keadaan hiperurisemia pada hewan uji adalah kalium oksonat (Osada, et al., 1993). Struktur kalium oksonat dapat dilihat pada gambar 2.3. Pada mamalia yang memiliki tingkatan lebih rendah daripada manusia, seperti tikus, urikase berperan dalam konversi asam urat menjadi alantoin yang lebih mudah larut dalam air sehingga dapat diekskresi melalui urin (Ernst & Clark, 2011; Katzung, Masters, & Trevor, 2009). Mekanisme aksi kalium oksonat dalam meningkatkan kadar asam urat dapat dilihat pada gambar 2.4. Dosis kalium oksonat agar hewan uji mengalami hiperurisemia adalah 250 mg/kg bb yang diberikan secara intraperitoneal (Osada, et al., 1993).

Model inhibitor urikase yang ideal untuk menginduksi hewan uji agar hiperurisemia adalah bersifat *irreversible*, nonkompetitif, dan relatif tidak toksik serta efektif jika digunakan dalam dosis kecil. Asam oksonat bukan merupakan inhibitor urikase yang ideal karena bersifat kompetitif dan dapat dieleminasi dari tubuh dengan cepat. Walaupun relatif tidak toksik, asam oksonat dan garamnya memiliki kandungan lain yang dapat memengaruhi sistem metabolik lainnya (B., Stavric & Nera, 1978).

Hingga saat ini, inhibitor urikase yang ideal untuk hewan uji tikus belum ditemukan sehingga kalium oksonat masih dapat digunakan sebagai inhibitor urikase yang efektif secara *in vivo* (B., Stavric & Nera, 1978).

2.4 Teknologi Ekstraksi

2.4.1 Simplisia dan ekstrak

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan atas simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Depkes RI, 2000).

Simplisia nabati berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan, atau eksudat tumbuhan, yaitu isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau senyawa nabati lainnya yang

dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni (Depkes RI, 2000).

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa serbuk atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995a).

Ekstrak cair adalah sediaan dari simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi, tiap ml ekstrak mengandung senyawa aktif dari 1 g simplisia yang memenuhi syarat. Ekstrak cair yang cenderung membentuk endapan dapat didiamkan atau bagian yang bening dienaptuangkan (dekantasi) (Depkes RI, 1995a).

2.4.2 Pembuatan ekstrak (Depkes RI, 2000)

2.4.2.1 Pembuatan serbuk simplisia

Serbuk simplisia dibuat dari simplisia dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat memengaruhi mutu ekstrak dengan dasar pada beberapa hal berikut:

- a. Makin halus serbuk, proses ekstraksi makin efektif dan efisien, namun makin rumit pula teknologi peralatan untuk tahapan filtrasi.
- b. Selama penggunaan peralatan penyerbukan, dimana ada gerakan dan interaksi dengan benda keras (logam, dll), maka akan timbul panas yang dapat memengaruhi kandungan senyawa.

2.4.2.2 Cairan pelarut

Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau bahan aktifnya sehingga senyawa tersebut dapat dipisahkan dari kandungan senyawa lainnya. Dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut yang dipilih adalah yang dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung.

Faktor utama yang menjadi pertimbangan dalam pemilihan cairan pelarut adalah selektivitas, ekonomis, ramah lingkungan, kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut, serta keamanan. Cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian atau *pharmaceutical grade*. Hingga saat ini berlaku peraturan bahwa pelarut yang diperbolehkan dalam proses ekstraksi adalah air, etanol, dan campurannya. Jenis pelarut lain, seperti metanol (alkohol dan turunannya), heksan (hidrokarbon alifatik), toluen (hidrokarbon aromatik), kloroform, aseton, umumnya digunakan sebagai pelarut untuk tahap separasi dan pemurnian atau fraksinasi.

2.4.2.3 Penguapan atau pemekatan

Pemekatan berarti peningkatan jumlah senyawa terlarut secara penguapan pelarut tanpa sampai menjadi kondisi kering, melainkan ekstrak hanya menjadi pekat atau kental.

2.4.3 Metode ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Ekstraksi terdiri dari dua cara, yaitu cara dingin dan cara panas.

2.4.3.1 Cara dingin

- a. Maserasi, yaitu proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar.
- b. Perkolasi, yaitu ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru hingga sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan.

2.4.3.2 Cara panas

- a. Refluks, yaitu ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama 3-5 kali sehingga didapat proses ekstraksi sempurna.

- b. Soxhlet, yaitu ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
- c. Digesti, yaitu maserasi kinetik dengan pengadukan kontinu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar, yaitu 40-50⁰C.
- d. Infus, yaitu ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air, yaitu 96-98⁰C selama 15-20 menit.
- e. Dekok, yaitu infus pada waktu yang lebih lama (> 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air.

2.5 Skrining Fitokimia Ekstrak Secara Kualitatif

Pengujian ini dilakukan untuk memberikan gambaran awal tentang senyawa kimia apa saja yang terkandung dalam ekstrak. Identifikasi dilakukan secara kualitatif menggunakan pereaksi-pereaksi yang spesifik untuk setiap golongan senyawa. Pada umumnya, penapisan fitokimia ekstrak meliputi identifikasi senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan glikosida (Tiwari, Kumar, Kaur, Kaur, & Kaur, 2011).

2.6 Standardisasi Ekstrak

Usaha budidaya dan standardisasi terhadap bahan baku perlu dilakukan untuk menjaga kualitas bahan baku obat yang berasal dari alam. Standardisasi adalah serangkaian parameter, prosedur, dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait yang memenuhi standar dan jaminan stabilitas produk. Standar mutu dari bahan ekstrak dapat terpenuhi melalui usaha-usaha yang standar dalam pembuatan ekstrak tersebut, meliputi pemeriksaan persyaratan parameter standar non spesifik dan spesifik dari ekstrak (Badan POM RI, 2005).

2.6.1 Parameter non spesifik (Depkes RI, 2000)

2.6.1.1 Susut pengeringan

Pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105⁰C selama 30 menit atau sampai berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai prosen disebut susut pengeringan. Dalam hal khusus (jika bahan tidak mengandung minyak atsiri

dan sisa pelarut organik menguap) identik dengan kadar air, yaitu kandungan air karena berada di atmosfer atau lingkungan udara terbuka.

2.6.1.2 Kadar air

Pengukuran kadar air yang terkandung dalam bahan dilakukan dengan cara yang tepat, yaitu titrasi, destilasi, atau gravimetri. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk memberikan batasan tentang kandungan air di dalam bahan yang terkait dengan kemurnian dan kontaminasi.

2.6.1.3 Kadar abu

Prinsipnya adalah bahan dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sehingga hanya unsur mineral dan anorganik yang tertinggal. Penetapan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran tentang kandungan mineral yang terkandung dalam ekstrak.

2.6.2 Parameter spesifik

Parameter identitas ekstrak meliputi deskripsi tata nama dan organoleptik ekstrak.

2.6.2.1 Deskripsi tata nama

- a Nama ekstrak (generik, dagang, paten)
- b Nama latin tanaman (sistematika botani)
- c Bagian tanaman yang digunakan
- d Nama Indonesia tanaman

2.6.2.2 Organoleptik ekstrak

- a. Bentuk : padat, serbuk kering, kental, cair
- b. Warna : kuning, coklat, dan lain-lain
- c. Bau : aromatik, tidak berbau, dan lain-lain
- d. Rasa : pahit, manis, kelat, dan lain-lain

2.6.3 Kadar total golongan kandungan kimia

Pengujian ini dilakukan dengan tujuan untuk memberikan informasi kadar golongan kandungan kimia sebagai parameter mutu ekstrak dalam kaitannya dengan efek farmakologis. Metode pengukurannya dapat dilakukan secara spektrofotometri, titrimetri, volumetri, gravimetri, dan lainnya yang sudah teruji validitasnya.

2.7 Metode Pengukuran Kadar Asam Urat

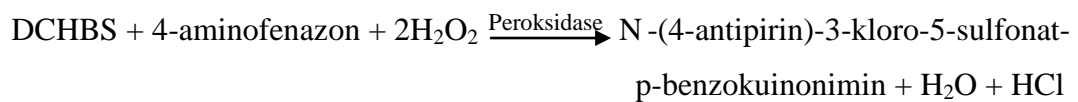
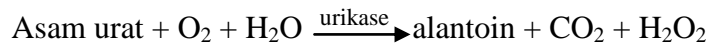
Pengukuran kadar asam urat dalam darah secara umum dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu metode reduksi menggunakan asam fosfotungstat, metode enzimatis dengan urikase, dan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT).

Prinsip pengukuran kadar asam urat dengan metode reduksi menggunakan asam fosfotungstat adalah terjadinya reduksi asam fosfotungstat menjadi senyawa *tungsten blue* yang selanjutnya akan mengoksidasi asam urat menjadi alantoin dan karbon dioksida. *Tungsten blue* yang terbentuk diukur pada panjang gelombang 700 nm. Penggunaan metode ini memiliki kelemahan berupa spesifisitas yang rendah akibat adanya gangguan dari senyawa-senyawa yang terkandung dalam sampel darah yang juga dapat mereduksi asam fosfotungstat sehingga metode ini sudah jarang digunakan (Jelkic, Djurdjevic, & Stankov, 2003).

Metode enzimatis dengan urikase dapat dilakukan dengan analisis kolorimetri, yaitu kuantitasi hidrogen peroksida sebagai hasil oksidasi enzimatis asam urat. Urikase digunakan untuk meningkatkan kepekaan dalam pengukuran kadar asam urat (Randox Laboratories Ltd, 2011).

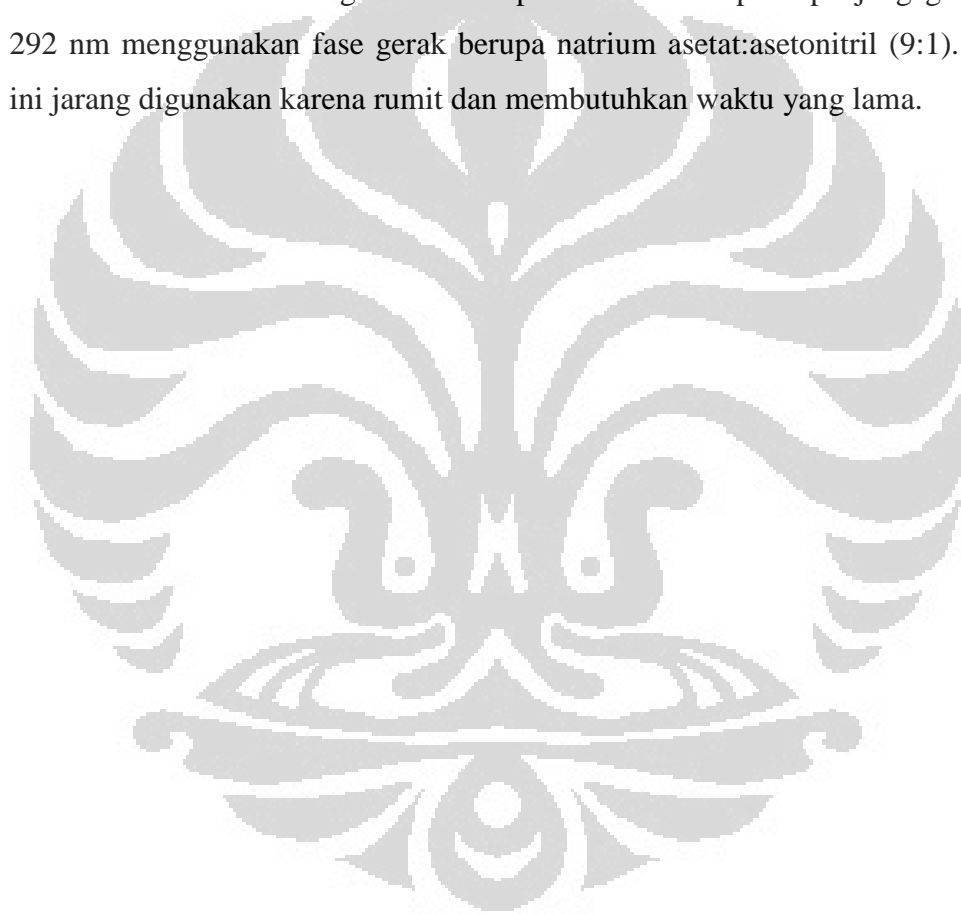
Prinsip reaksinya adalah mengoksidasi asam urat menjadi alantoin, hidrogen peroksida, dan karbon dioksida. Hidrogen peroksida yang terbentuk akan bereaksi dengan zat pembentuk warna, yaitu 3,5-dikloro-2-hidroksibenzensulfonat (DCHBS) dan 4-aminofenazon (PAP) menghasilkan senyawa kromogen kuinonimin, yaitu N-(4-antipiril)-3-kloro-5-sulfonat-p-benzokuinonimin yang serapannya dapat diukur pada panjang gelombang 520 nm (Gambar 2.5).

Reaksinya adalah sebagai berikut:



Metode ini lebih banyak digunakan karena lebih spesifik (Randox Laboratories Ltd, 2011).

Pengukuran kadar asam urat dengan metode KCKT memiliki keunggulan berupa sensitivitas dan presisi yang tinggi. Metode KCKT yang digunakan adalah metode fase terbalik dengan deteksi spektrofotometer pada panjang gelombang 292 nm menggunakan fase gerak berupa natrium asetat:asetonitril (9:1). Metode ini jarang digunakan karena rumit dan membutuhkan waktu yang lama.



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Fitokimia, Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Kuantitatif, dan Laboratorium Kimia Farmasi Kualitatif Fakultas Farmasi Universitas Indonesia selama bulan Februari hingga Juni 2012.

3.2 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini, yaitu sentrifugator (Digisystem Lab. Instrument), timbangan analitik (Ohaus), timbangan hewan (Mettler Teledo), sonde lambung, spuit (Terumo), jarum suntik (Terumo), pipet mikro (Socorex Swiss), mikrohematokrit, *microtube*, lemari pendingin, spektrofotometer UV-Vis (Thermospectronic Genesys 20), shaker (KS 501 D), alkoholmeter, *rotary evaporator* (kunkel IKA Labor Technik dan Buchi), *waterbath*, desikator, oven, tanur (Waterhrem), dan alat-alat gelas (Pyrex dan Duran).

3.3 Bahan

3.3.1 Bahan uji

Pada penelitian ini digunakan bahan uji yaitu, serbuk simplisia rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter) yang berasal dari rimpang temu kunci berumur 8 bulan dengan panjang 6-10 cm, diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Balitro) (Gambar 3.1 dan Gambar 3.2). Simplisia ini telah dideterminasi oleh pusat penelitian dan pengembangan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor (Lampiran 1).

3.3.2 Hewan uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji berupa tikus putih dewasa jantan galur *Sprague-Dawley* (Lampiran 2), bobot 150-200 gram, dan berumur 2 bulan yang diperoleh dari bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor (IPB).

3.3.3 Bahan kimia

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian, yaitu akuades, etanol 70% hasil pengenceran dari etanol teknis 96% yang telah didestilasi, eter (teknis), amonia (Merck), benzen (Merck), asam klorida (Merck), asam sulfat (Merck), natrium klorida (Merck), larutan Mayer, larutan Bouchardat, larutan Dragendorf, larutan Molish, larutan besi (III) klorida (Merck), larutan timbal (II) asetat (Merck), larutan gelatin 10%, serbuk seng (Merck), serbuk magnesium (Merck), asam asetat anhidrat (Merck), CMC (Brataco Chemika), alopurinol (Kimia Farma), kalium oksonat (Sigma Aldrich Chemical), heparin (Fahrenheit), dan reagen kit asam urat (Randox). Sertifikat analisis alopurinol dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Penyiapan hewan uji

Sebelum digunakan, tikus diaklimatisasi selama dua minggu dalam kandang Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Tikus diberi makan dan minum yang seragam serta dilakukan pengamatan rutin terhadap keadaan umum dan penimbangan berat badan tikus.

Tikus yang sehat memiliki ciri-ciri bulu bersih, mata bersinar, berat badan bertambah setiap hari dan tidak menunjukkan perilaku yang aneh. Tikus yang dinyatakan sehat dikelompokkan secara acak dengan jumlah 5 ekor untuk tiap kelompoknya.

3.4.2 Penentuan dosis

3.4.2.1 Ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci

Dosis rimpang temu kunci yang digunakan berdasarkan penelitian efek antiinflamasi yang telah dilaporkan sebelumnya, yaitu dosis tunggal 300 mg ekstrak/kg bb tikus secara per oral (Hargono, 2000). Dosis ini setara dengan 60 mg ekstrak/200 g bb tikus. Dosis penggunaan pada pengobatan asam urat secara empiris tidak ditemukan dalam berbagai literatur sehingga pada penelitian ini digunakan dosis berdasarkan penelitian efek antiinflamasi.

Untuk mengetahui apakah dosis ini dapat memberikan efek penurunan kadar asam urat pada tikus yang dibuat hiperurisemia, maka dilakukan uji pendahuluan dosis ekstrak sebelum melakukan uji sebenarnya. Dosis yang paling efektif pada uji pendahuluan ini selanjutnya akan digunakan sebagai dosis acuan pada uji yang sebenarnya.

3.4.2.2 Suspensi alopurinol

Dosis lazim penggunaan alopurinol pada manusia adalah 200 mg/hari (Wilmana, 2007). Untuk mencari dosis yang digunakan pada tikus, maka digunakan konversi dosis berdasarkan konversi Paget dan Barnes. Variabel yang harus diketahui untuk mencari konversi dosis ini adalah faktor konversi dan faktor farmakokinetika. Faktor konversi dosis dari manusia ke tikus adalah 0,018 (Harmita & Radji, 2008), sedangkan faktor farmakokinetikanya adalah 10 (Williams, 1979). Hasil perhitungan dosis untuk alopurinol adalah

$$\begin{aligned} \text{Dosis konversi} &= \text{dosis untuk manusia} \times \text{faktor konversi untuk tikus dengan berat} \\ &\quad \text{badan 200 gram} \times \text{faktor farmakokinetika} \\ &= 200 \text{ mg} \times 0,018 \times 10 \\ &= 36 \text{ mg/hari/200 gram berat badan tikus} \end{aligned}$$

3.4.2.3 Suspensi kalium oksonat

Dosis kalium oksonat yang diberikan agar hewan uji menjadi hiperurisemia berdasarkan pada hasil optimasi dosis kalium oksonat pada uji pendahuluan.

3.4.3 Persiapan bahan

3.4.3.1 Simplisia rimpang temu kunci

Serbuk simplisia rimpang temu kunci diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Balitro), Bogor.

3.4.3.2 Ekstrak bahan uji

Ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci diperoleh menggunakan metode maserasi, yaitu ekstraksi cara dingin. Pemilihan pelarut etanol berdasarkan pada

polaritas flavonoid yang merupakan senyawa aktif yang diduga berperan dalam penghambatan xantin oksidase (Cos, et al., 1998).

Sebanyak 623,0 gram serbuk simplisia rimpang temu kunci dimasukkan ke dalam maserator, lalu ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 6-7 cm diatas simplisia (1,2 L). Simplisia direndam selama 6 jam sambil diaduk menggunakan *shaker*, lalu didiamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara difiltrasi menggunakan kain penyaring. Remaserasi dilakukan sebanyak 6 kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama hingga warna maserat memudar dari cokelat gelap menjadi kuning kecokelatan cerah. Semua maserat dikumpulkan, lalu diuapkan dengan *rotatory evaporator* pada suhu 50⁰C. Filtrat yang tersisa diuapkan menggunakan cawan penguap didalam *waterbath* pada suhu 40-50⁰C hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan dihitung persentase rendemennya.

3.4.3.3 Larutan CMC 0,5%

Sejumlah CMC ditimbang, lalu dikembangkan dengan akuades hangat sejumlah 20 kalinya. Biarkan mengembang selama 30 menit, lalu CMC digerus perlahan-lahan sampai larut sambil ditambahkan akuades hingga jumlah tertentu.

3.4.3.4 Suspensi kalium oksonat

Sejumlah serbuk kalium oksonat ditimbang, lalu dibuat sediaan dalam bentuk suspensi menggunakan larutan CMC 0,5%.

3.4.3.5 Suspensi alopurinol

Sejumlah serbuk alopurinol ditimbang, lalu dibuat sediaan dalam bentuk suspensi menggunakan larutan CMC 0,5%.

3.4.4 Penetapan rendemen

Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan dibandingkan bobotnya dengan serbuk simplisia awal yang digunakan. Perbandingan tersebut dinyatakan dalam % (persen) (Depkes RI, 2008).

3.4.5 Skrining fitokimia ekstrak rimpang temu kunci secara kualitatif (Depkes RI, 1995b; Tiwari, Kumar, Kaur, Kaur, & Kaur, 2011)

3.4.5.1 Identifikasi alkaloid

Sebanyak kurang lebih 0,5 gram ekstrak ditambahkan beberapa ml asam klorida encer, lalu dipanaskan diatas *waterbath* selama 2 menit. Larutan didinginkan, lalu disaring. Filtrat dari hasil penyaringan dibagi menjadi tiga bagian untuk diuji dengan beberapa pereaksi, yakni pereaksi Mayer, pereaksi Bourchardat, dan pereaksi Dragendorf.

Pada penambahan pereaksi Mayer, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna putih atau kuning yang larut dalam metanol. Hasil positif dari pereaksi Bourchardat ditunjukkan dengan terbentuknya endapan coklat hingga hitam, sedangkan pada penambahan pereaksi Dragendorf akan menghasilkan endapan merah bata.

3.4.5.2 Identifikasi fenol

Sejumlah ekstrak dilarutkan dalam etanol 96%, lalu ditambahkan 3-4 tetes larutan pereaksi besi (III) klorida. Jika terbentuk warna biru kehitaman, maka ekstrak positif mengandung senyawa fenol.

3.4.5.3 Identifikasi flavonoid (test shinoda)

Sejumlah ekstrak dilarutkan dalam 1-2 ml etanol 96%, lalu ditambahkan 0,5 gram serbuk seng dan 2 ml asam klorida 2N. Larutan didiamkan selama 1 menit, lalu ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat. Jika terbentuk warna merah intensif dalam waktu 2 sampai 5 menit, maka ekstrak mengandung senyawa flavonoid (glikosida-3-flavonol).

Sejumlah ekstrak dilarutkan dalam 1 ml etanol 96%, lalu ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 10 tetes asam klorida pekat. Jika terbentuk warna jingga sampai merah ungu, maka ekstrak positif mengandung senyawa flavonoid. Jika terbentuk warna kuning jingga, maka ekstrak positif mengandung senyawa flavon, kalkon, dan auron.

3.4.5.4 Identifikasi glikosida antrakuinon

Sejumlah ekstrak dihidrolisis dengan penambahan 15 ml asam klorida 2N, lalu didinginkan. Larutan kemudian disaring. Filtratnya digunakan pada uji Molish dan uji Bontrager termodifikasi.

Uji Molish dilakukan dengan menambahkan 2 tetes larutan pereaksi Molish pada filtrat, lalu ditambahkan asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Hasil positif terhadap senyawa glikosida ditunjukkan dengan terbentuknya cincin ungu pada perbatasan kedua lapisan.

Uji Bontrager termodifikasi dilakukan dengan menambahkan beberapa ml benzen kedalam filtrat, lalu didiamkan. Adanya senyawa antrakuinon ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning pada lapisan benzen. Apabila ditambahkan larutan NH_4OH encer pada lapisan benzen, maka akan terbentuk warna merah pada lapisan NH_4OH .

3.4.5.5 Identifikasi saponin

Sebanyak kurang lebih 0,5 gram ekstrak ditambahkan 2 ml air, dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa atau buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama 10 menit. Busa atau buih yang terbentuk harus tetap stabil pada penambahan 1 tetes asam klorida encer.

3.4.5.6 Identifikasi tanin

Sejumlah ekstrak dilarutkan dalam akuades panas, lalu dikocok hingga homogen dan disaring. Sebagian filtrat ditambahkan 5 tetes natrium klorida 10%, lalu ditambahkan larutan gelatin 10%. Sisa filtrat ditambahkan asam asetat encer hingga diperoleh kondisi asam (pH 3-6), lalu ditambahkan larutan timbal (II) asetat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih menggumpal.

3.4.5.7 Identifikasi terpen

Sejumlah ekstrak ditambahkan 5 ml eter didalam tabung reaksi, lalu dikocok dan dipindahkan ke plat tetes. Eter dibiarkan menguap, lalu ditambahkan 2 tetes asetat anhidrida dan 1 tetes asam sulfat pekat P. Jika terbentuk warna merah-hijau atau violet-biru, maka ekstrak positif mengandung senyawa terpen.

3.4.6 Standardisasi Ekstrak

3.4.6.1 Parameter non spesifik (Depkes RI, 2008)

a. Penetapan susut pengeringan

Ekstrak ditimbang secara seksama sebanyak 1-2 gram dan dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal bertutup yang telah dipanaskan pada suhu 105°C hingga selama 30 menit dan telah ditara. Ekstrak diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 mm sampai 10 mm. Kemudian dimasukkan ke dalam oven, tutup dibuka dan dikeringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, botol dibiarkan dalam keadaan tertutup mendingin dalam desikator hingga suhu kamar.

b. Penetapan kadar abu total

Lebih kurang 2-3 gram ekstrak dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, lalu diratakan. Kemudian dipijar perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan dan ditimbang. Jika arang tidak dapat dihilangkan, ditambah air panas, dan disaring dengan kertas saring bebas abu. Sisa abu dan kertas saring dipijarkan dalam krus yang sama. Filtrat dimasukkan ke dalam krus, diuapkan dan dipijarkan hingga bobot tetap dan ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

3.4.6.2 Parameter spesifik (Depkes RI, 2000)

a. Deskripsi tata nama

Dilakukan penetapan terhadap parameter identitas ekstrak berupa deskripsi tata nama ekstrak yang meliputi nama ekstrak (generik, dagang, paten), nama latin tanaman (sistematika botani), bagian tanaman yang digunakan, dan nama Indonesia tanaman.

b. Organoleptik ekstrak

Dilakukan pengamatan organoleptik ekstrak menggunakan pancaindera untuk mendeskripsikan bentuk, warna, rasa, dan bau.

3.4.7 Pelaksanaan penelitian

3.4.7.1 Uji pendahuluan

Sebelum melakukan uji sebenarnya, dilakukan uji pendahuluan yang terdiri dari dua bagian. Uji pendahuluan pertama bertujuan untuk menentukan dosis optimum kalium oksonat yang dapat membuat hewan uji mencapai kondisi hiperurisemia, sedangkan uji pendahuluan kedua untuk menentukan dosis optimum ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci yang dapat menurunkan kadar asam urat darah tikus.

a. Uji pendahuluan dosis kalium oksonat

Pengujian dilakukan pada tiga kelompok tikus dengan masing-masing kelompok terdiri dari tiga ekor tikus.

Tabel 3.1. Pembagian kelompok dan perlakuan pada uji pendahuluan dosis kalium oksonat

Kelompok	Jumlah Tikus (ekor)	Perlakuan	
		Jam ke-1	Jam ke-3
Dosis 1	3	Pemberian kalium oksonat dosis 1 dalam larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah
Dosis 2	3	Pemberian kalium oksonat dosis 2 dalam larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah
Kontrol normal	3	Pemberian larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah

Keterangan: Dosis 1: kalium oksonat dosis 50 mg/200 g bb; Dosis 2: kalium oksonat dosis 62,5 mg/200 g bb

b. Uji pendahuluan dosis ekstrak

Pengujian dilakukan pada empat kelompok tikus dengan masing-masing kelompok terdiri dari tiga ekor tikus.

Tabel 3.2. Pembagian kelompok dan perlakuan pada uji pendahuluan dosis ekstrak temu kunci

Kelompok	Jumlah Tikus (ekor)	Perlakuan			
		Hari 1-7	Hari kedelapan		
			Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-3
Dosis 1	3	1 x dosis 1	Induksi kalium oksonat	Sediaan uji dosis 1 dalam larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah
Dosis 2	3	2 x dosis 1	Induksi kalium oksonat	Sediaan uji dosis 2 dalam larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah
Kontrol normal	3	Larutan CMC 0,5%	Larutan CMC 0,5%	Larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah
Pem-banding obat	3	Alopurinol dalam larutan CMC 0,5%	Induksi kalium oksonat	Alopurinol dalam larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah

Keterangan: Dosis 1: ekstrak rimpang temu kunci dosis 60 mg/200 g bb; Dosis 2: ekstrak rimpang temu kunci dosis 120 mg/200 g bb; Pembanding obat: alopurinol dosis 36 mg/200 g bb; induksi kalium oksonat dengan dosis 50 mg/200 g bb.

3.4.7.2 Uji sebenarnya

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih jantan yang dibagi secara rancangan acak sederhana kedalam enam kelompok perlakuan dengan lima ekor tikus dalam masing-masing kelompok. Jumlah tikus ini berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus Federer (Jusman & Halim, 2009) sebagai berikut:

$$(t-1)(n-1) \geq 15 \quad (3.1)$$

Dimana: t adalah jumlah perlakuan

n adalah jumlah pengulangan untuk tiap perlakuan

Pada penelitian ini, $t = 6$, maka $n \geq 3$. Oleh karena itu, minimal jumlah tikus yang digunakan dalam tiap kelompok adalah empat ekor. Jumlah tikus yang digunakan dalam tiap kelompok adalah lima ekor untuk memperkecil nilai simpangan deviasi akibat adanya variasi biologis dari masing-masing tikus.

Tabel 3.3. Pembagian kelompok dan perlakuan pada uji sebenarnya

Kelompok	Jumlah Tikus (ekor)	Perlakuan			
		Hari 1-7	Hari kedelapan		
			Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-3
Dosis 1	5	2/3 x dosis 2	Induksi kalium oksonat	Sediaan uji dosis 1 dalam larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah
Dosis 2	5	1 x dosis 2	Induksi kalium oksonat	Sediaan uji dosis 2 dalam larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah
Dosis 3	5	3/2 x dosis 2	Induksi kalium oksonat	Sediaan uji dosis 3 dalam larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah
Kontrol normal	5	Larutan CMC 0,5%	Larutan CMC 0,5%	Larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah
Kontrol induksi	5	Larutan CMC 0,5%	Induksi kalium oksonat	Pemberian larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah
Pem-banding obat	5	Alopurinol dalam larutan CMC 0,5%	Induksi kalium oksonat	Alopurinol dalam larutan CMC 0,5%	Pengambilan darah

Keterangan: Dosis 1: ekstrak rimpang temu kunci dosis 40 mg/200 g bb; Dosis 2: ekstrak rimpang temu kunci dosis 60 mg/200 g bb; Dosis 3: ekstrak rimpang temu kunci dosis 90 mg/200 g bb; Kontrol induksi: kalium oksonat dosis 50 mg/200 g bb; Pembanding obat: alopurinol dosis 36 mg/200 g bb.

3.4.7.3 Pengambilan darah

Darah dikumpulkan menggunakan pipet mikrohematokrit melalui 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, pipet mikrohematokrit dimasukkan ke pangkal sudut bola mata dengan sudut 45⁰ sambil diputar perlahan ke arah belakang bola mata hingga darah mengalir melalui pipet mikrohematokrit tersebut. Darah yang keluar dikarenakan adanya gaya kapilaritas (Hoof, 2000).

Darah ditampung secara hati-hati ke dalam mikrotube yang sebelumnya telah diberi heparin untuk mencegah agar darah tidak membeku, lalu

disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit untuk mendapatkan filtrat yang jernih. Sentrifugasi dilakukan secara hati-hati untuk mencegah terjadinya hemolisis. Plasma yang diperoleh dipisahkan dengan menggunakan pipet Pasteur, lalu disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 2-8°C hingga dilakukan pengukuran kadar asam urat sampel tersebut.

3.4.8 Penentuan kadar asam urat

Kadar asam urat diukur dengan metode kolorimetri enzimatis menggunakan reagen komersial Randox (Lampiran 4). Pada pengukuran menggunakan metode ini, asam urat diubah secara enzimatis menjadi alantoin dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida bereaksi dengan asam 3,5-dikloro-2-hidroksibenzensulfonat (DCHBS) dan 4-aminofenazon (PAP) menjadi senyawa kuinonimin yang berwarna merah.

Analisis kadar asam urat dilakukan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Larutan blanko dan sampel yang akan dimasukkan ke dalam kuvet disiapkan dengan rincian sebagai berikut:

- Larutan blanko : 1000 µL reagen
- Larutan standar : 1000 µL reagen dan 20 µL standar
- Larutan sampel : 1000 µL reagen dan 20 µL sampel

Ketiga larutan tersebut diinkubasi pada suhu kamar (20-25°C) selama 15 menit hingga terbentuk warna merah. Serapan sampel dan standar diukur terhadap blanko pereaksi dalam waktu 30 menit pada panjang gelombang 520 nm. Besarnya kadar asam urat dalam sampel ditentukan dengan rumus:

$$\text{Kadar asam urat (mg/dL)} = \text{Kadar asam urat standar} \times \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi standar}} \quad (3.2)$$

3.4.9 Persentase penurunan kadar asam urat

Persentase penurunan kadar asam urat dihitung menggunakan rata-rata kadar asam urat kelompok kontrol induksi dan kontrol normal sebagai standarnya. Selisih rata-rata kadar asam urat kelompok kontrol induksi dengan rata-rata kadar asam urat sampel dibandingkan dengan selisih rata-rata kadar asam urat kontrol induksi dengan kadar asam urat kontrol normal (Purwatiningsih, Hakim, & Purwantini, 2010).

Perhitungan persentase penurunan kadar asam urat diperlihatkan dari rumus berikut ini:

$$\% \text{ penurunan kadar asam urat} = \frac{\text{kadar induksi-kadar sampel}}{\text{kadar induksi-kadar normal}} \times 100\% \quad (3.3)$$

3.4.10 Pengolahan data (Trihendradi, 2011)

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji *Saphiro-Wilk* untuk melihat normalitas data dan uji *Levene* untuk melihat homogenitas data. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji analisis varians (ANOVA) satu arah dengan taraf kepercayaan 95% sehingga dapat diketahui apakah perbedaan yang diperoleh bermakna atau tidak. Apabila terdapat perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk melihat perbedaan antar tiap kelompok perlakuan.

Jika salah satu syarat untuk uji ANOVA tidak terpenuhi, maka dilakukan uji *Kruskal - Wallis* untuk mengetahui adanya perbedaan, selanjutnya dilakukan uji *Mann - Whitney* untuk melihat perbedaan antar tiap kelompok perlakuan.

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Rimpang Temu Kunci

Serbuk simplisia rimpang temu kunci diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Balitro). Serbuk simplisia ini memiliki bau khas yang aromatik. Pembuatan ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci dilakukan dengan cara ekstraksi dingin, yaitu maserasi untuk mencegah rusaknya kandungan senyawa yang terkandung didalamnya, terutama senyawa flavonoid yang tidak tahan terhadap pemanasan tinggi. Pelarut etanol dipilih karena memiliki polaritas yang sama dengan flavonoid. Selain itu, pemilihan etanol 70% sebagai pelarut merujuk pada penelitian *in vitro* rimpang temu kunci terhadap efek penghambatan xantin oksidase yang telah dilakukan sebelumnya (Darusman, Heryanto, Rafi, & Wahyuni, 2007).

Serbuk simplisia yang digunakan dalam proses maserasi sebanyak 623,0 gram, lalu ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 6-7 cm diatas simplisia. Simplisia direndam selama 6 jam disertai pengadukan konstan, lalu didiamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara difiltrasi menggunakan kain penyaring. Maserasi dilakukan berulang hingga 6 kali dengan jumlah dan jenis pelarut yang sama hingga telah terjadi perubahan warna maserat dari coklat gelap menjadi kuning kecokelatan cerah. Perubahan warna ini menandakan bahwa hampir semua senyawa yang terkandung didalamnya, terutama senyawa-senyawa yang memiliki bobot molekul rendah, seperti flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid telah tertarik oleh pelarut etanol (Harborne, 1996).

Semua maserat dikumpulkan, lalu diuapkan dengan *rotatory evaporator* pada suhu 50⁰C. Filtrat yang tersisa diuapkan menggunakan cawan penguap didalam *waterbath* pada suhu 40-50⁰C hingga didapatkan ekstrak kental dengan bobot yang konstan. Berat akhir ekstrak kental yang didapatkan dari proses maserasi dengan jumlah pelarut yang digunakan sebanyak 8,4 liter adalah 76,2 gram sehingga rendemen ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci sebesar 12,23%.

4.2 Skrining Fitokimia Etanol 70% Rimpang Temu Kunci

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci. Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan beberapa pereaksi kimia sesuai dengan identifikasi senyawa yang akan dilakukan, yaitu golongan senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, tanin, terpen, glikosida, dan antrakuinon. Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang dilakukan, ekstrak etanol rimpang temu kunci memiliki kandungan senyawa berupa fenol, flavonoid, saponin, dan glikosida (Tabel 4.4).

4.3 Standardisasi Ekstrak Etanol 70% Rimpang Temu Kunci

Parameter yang diperhatikan dalam proses standardisasi ekstrak meliputi parameter spesifik dan non spesifik. Parameter spesifik berupa identitas ekstrak, yaitu deskripsi tata nama dan organoleptik ekstrak. Deskripsi tata nama ekstrak meliputi:

- a Nama ekstrak : Ekstrak Etanol 70% Rimpang Temu Kunci
- b Nama latin tanaman : *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechter
- c Bagian yang digunakan : Rimpang
- d Nama Indonesia tanaman : Temu kunci

Hasil pengamatan organoleptis ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci yang didapatkan berupa cairan kental berwarna coklat kehitaman, berbau khas aromatik, dan berasa sedikit kelat (Gambar 4.3).

Parameter non spesifik meliputi penetapan susut pengeringan dan kadar abu total. Penetapan susut pengeringan ekstrak dilakukan dengan tujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes RI, 2000). Susut pengeringan rata-rata yang diperoleh sebesar $23,23 \pm 0,17\%$ (Tabel 4.5 dan Lampiran 5).

Penetapan kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran tentang kandungan mineral internal dan eksternal yang terkandung dalam ekstrak yang berasal dari awal proses hingga terbentuk ekstrak (Depkes RI, 2000). Kadar abu total rata-rata yang diperoleh sebesar $1,42 \pm 0,05\%$ (Tabel 4.6 dan Lampiran 6).

4.4 Penetapan Dosis Penginduksi dan Ekstrak

Sebelum melakukan pengujian yang sebenarnya, dilakukan uji optimasi dosis kalium oksonat yang dapat membuat kondisi hiperurisemia pada hewan uji. Dosis yang akan diuji adalah 50 mg/200 g bb sebagai dosis pertama yang sudah teruji dalam membuat kondisi hiperurisemia pada hewan uji (Osada, et al., 1993) dan 62,5 mg/200 g bb sebagai dosis kedua.

Dosis ekstrak rimpang temu kunci yang digunakan berdasarkan dosis ekstrak temu kunci untuk penelitian antiinflamasi. Dosis yang digunakan, yaitu 300 mg/kg bb tikus (Hargono, 2000). Dosis ini digunakan sebagai dosis I pada uji pendahuluan dosis ekstrak. Dosis II merupakan kelipatan dua dari dosis pertama (Lampiran 7). Hasil dari uji pendahuluan dosis ini menjadi acuan dosis yang digunakan untuk uji sebenarnya.

4.5 Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Rimpang Temu Kunci

Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley* berumur 2 bulan dengan berat badan berkisar antara 150-200 g yang telah diaklimatisasi selama 2 minggu. Hewan uji yang ideal dalam penelitian ini adalah hewan dari bangsa amfibi, burung, atau reptil karena hewan tersebut tidak memiliki enzim urikase yang dapat menguraikan asam urat didalam tubuh, seperti manusia. Namun, adanya pertimbangan bahwa penelitian ini masih dapat dikembangkan ke tahap uji toksisitas yang diperlukan untuk menilai keamanan dari sediaan, maka hewan uji yang dipilih adalah tikus. Pemilihan jenis kelamin jantan dimaksudkan untuk menghindari pengaruh hormonal terhadap hasil pengujian.

Bahan yang digunakan untuk menginduksi kadar asam urat pada tikus adalah kalium oksonat karena merupakan inhibitor urikase atau urat oksidase (Osada, et al., 1993). Urikase pada tikus berfungsi dalam konversi asam urat menjadi allantoin yang akan lebih mudah larut dalam air sehingga dapat diekskresi melalui urin (Ernst & Clark, 2011). Adanya penghambatan enzim ini akan menyebabkan terjadinya akumulasi asam urat dalam darah. Oleh karena itu, kalium oksonat dapat digunakan untuk menginduksi hewan uji agar mencapai kondisi hiperurisemia (Osada, et al., 1993).

4.5.1 Uji pendahuluan

Sebelum dilakukan uji sebenarnya, terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan yang terdiri dari dua bagian. Uji pendahuluan pertama bertujuan untuk menentukan dosis efektif kalium oksonat sebagai penginduksi yang dapat membuat hewan uji mencapai kondisi hiperurisemia, sedangkan uji pendahuluan kedua untuk menentukan dosis optimum ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci yang dapat menurunkan kadar asam urat tikus.

Uji pendahuluan pertama menggunakan tiga kelompok perlakuan dengan masing-masing terdiri dari tiga ekor tikus. Pengambilan darah dilakukan pada dua jam setelah induksi karena kadar asam urat tertinggi dapat dicapai dalam waktu dua jam setelah pemberian secara intraperitoneal dan mengalami penurunan kadar hingga normal setelah delapan jam pemberian (Cai, Yan, Jun, Jian, Wen, & Bin, 2008).

Kalium oksonat diberikan dengan volume 2 mL/200 g bb secara intraperitoneal dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5% karena senyawa ini tidak larut dalam NaCl fisiologis. Sediaan suspensi kalium oksonat ini masih layak diberikan, walaupun syarat isotonisitas tidak terpenuhi karena sediaan parenteral tidak harus bersifat isotonis (Gad, 2009).

Pengambilan darah dilakukan melalui sinus orbital mata (Gambar 4.4). Cara ini dipilih karena prosedurnya cepat, volume darah yang dikeluarkan cukup banyak dan lancar sehingga dapat mengurangi resiko terjadinya hemolisis, dan tidak membuat hewan uji menjadi stres. Darah ditampung dalam mikrotube yang telah diberi heparin untuk mencegah koagulasi darah, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit untuk mendapatkan plasma yang selanjutnya akan diukur kadar asam uratnya.

Pengukuran kadar asam urat dilakukan dengan metode kolorimetri enzimatik menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Metode ini dipilih karena caranya sederhana, tidak membutuhkan waktu yang lama, dan memiliki spesifisitas serta absorbansi yang tinggi. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 520 nm (Randox Laboratories Ltd., 2011).

Sampel plasma yang mengandung asam urat sebenarnya dapat langsung diukur dengan spektrofotometer UV-Vis karena memiliki gugus kromofor, namun

absorptivitas molarnya rendah sehingga absorbansi yang dihasilkan juga rendah. Oleh karena itu, diperlukan reaksi derivatisasi dengan suatu senyawa untuk meningkatkan spesifisitas dan absorbansi dari sampel plasma, yaitu menggunakan pereaksi komersial Randox (Lampiran 4).

Asam urat yang terdapat dalam sampel plasma akan diubah menjadi alantoin dan hidrogen peroksida oleh urikase yang terdapat dalam pereaksi. Hidrogen peroksida yang terbentuk akan bereaksi dengan senyawa 3,5-dikloro-2-hidroksibenzensulfonat (DCHBS) dan 4-aminofenazon (PAP) menghasilkan suatu senyawa kuinonimin (Gambar 2.5) berwarna merah yang memiliki absorptivitas molar yang lebih tinggi. Semakin intensif warna merah yang terbentuk, maka semakin besar absorbansi yang diperoleh. Besarnya absorbansi kuinonimin sebanding dengan konsentrasi asam urat dalam sampel.

Sampel plasma yang telah dicampur dengan pereaksi diinkubasi dalam kuvet selama 15 menit pada temperatur ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) dengan kondisi pencahayaan minimum. Proses inkubasi bertujuan agar pembentukan kuinonimin berlangsung sempurna sehingga didapatkan absorbansi yang optimum. Ketepatan waktu dalam proses inkubasi ini sangat penting karena proses ini berlangsung secara enzimatis sehingga dapat memengaruhi absorbansi dalam pengukuran kadar asam urat sampel. Hal ini disebabkan kecepatan reaksi enzimatis yang 200 kali lebih besar daripada kecepatan reaksi dengan katalisator biasa sehingga pengukuran sampel pada waktu yang tidak tepat dapat menyebabkan variasi hasil saat pengukuran kadar asam urat. Kadar asam urat rata-rata semua kelompok uji pada optimasi dosis kalium oksonat dapat dilihat dalam Tabel 4.1 dibawah ini.

Tabel 4.1. Kadar Asam Urat Rata-rata Semua Kelompok pada Optimasi Dosis Kalium Oksonat

Kelompok	Rerata kadar asam urat \pm SD (mg/dL)
Dosis 1	4,53 \pm 0,18
Dosis 2	4,62 \pm 0,35
Kontrol normal	1,07 \pm 0,14

Keterangan: Dosis 1: kalium oksonat dosis 50 mg/200 g bb; Dosis 2: kalium oksonat dosis 62,5 mg/200 g bb; Kontrol normal: larutan CMC 0,5%

Berdasarkan hasil uji optimasi dosis kalium oksonat diatas didapatkan kadar asam urat rata-rata pada kelompok dosis 1 sebesar $4,53 \pm 0,18$ mg/dL, kelompok dosis 2 sebesar $4,62 \pm 0,35$ mg/dL, dan kelompok normal sebesar $1,07 \pm 0,14$ mg/dL. Kedua dosis tersebut dapat meningkatkan kadar asam urat 4 kali lipat dari kadar asam urat normal. Kadar asam urat rata-rata dari kedua dosis uji memiliki nilai yang tidak terlalu berbeda secara signifikan. Hal tersebut dapat disebabkan pada pemberian kalium oksonat dosis 62,5 mg/200 g bb, bagian sisi aktif dari enzim telah jenuh diduduki inhibitor (kalium oksonat) sehingga adanya peningkatan dosis tidak dapat meningkatkan kadar asam urat secara signifikan.

Berdasarkan data tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian kalium oksonat dosis 50 mg/200 g bb telah dapat mencapai kondisi hiperurisemia yang terlihat dari peningkatan kadar asam urat yang signifikan, yaitu mencapai 300% jika dibandingkan dengan kelompok normal. Dosis ini selanjutnya akan digunakan sebagai dosis penginduksi pada uji pendahuluan dosis ekstrak dan uji sebenarnya. Data lengkap hasil pengukuran kadar asam urat optimasi dosis kalium oksonat dapat dilihat pada Tabel 4.7.

Uji pendahuluan kedua menggunakan enam kelompok perlakuan dengan masing-masing terdiri dari tiga ekor tikus. Uji pendahuluan kedua bertujuan untuk menentukan dosis optimum ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci yang dapat menurunkan kadar asam urat darah tikus. Hal ini dilakukan karena dosis yang digunakan adalah dosis antiinflamasi sehingga diperlukan optimasi dosis uji untuk membuktikan bahwa dosis ini merupakan dosis yang juga efektif dalam menurunkan kadar asam urat.

Pemberian sediaan uji dengan volume 3 mL/200 g bb dilakukan selama delapan hari berturut-turut untuk memberikan efek akumulasi dari senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak. Hal tersebut dikarenakan rendahnya kadar senyawa aktif yang terkandung dalam obat dari bahan alam sehingga efek farmakologi yang dihasilkan rendah dan lambat (Katno, 2008). Kadar asam urat rata-rata semua kelompok pada uji pendahuluan dosis dapat dilihat dalam Tabel 4.2 berikut ini.

Tabel 4.2. Kadar Asam Urat Rata-rata Semua Kelompok pada Hari Kedelapan Uji Pendahuluan Dosis

Kelompok	Rerata kadar asam urat \pm SD (mg/dL)
Dosis 1	2,52 \pm 0,30
Dosis 2	4,23 \pm 0,10
Kontrol normal	0,32 \pm 0,09
Pembanding obat	0,69 \pm 0,25

Keterangan: Dosis 1: rimpang temu kunci dosis 60 mg/200 g bb; Dosis 2: rimpang temu kunci dosis 120 mg/200 g bb; kontrol normal: larutan CMC 0,5%; Pembanding obat: alopurinol dosis 36 mg/200 g bb

Berdasarkan hasil uji pendahuluan dosis ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci pada Tabel 4.2 diatas, kelompok dosis 1 memiliki nilai kadar asam urat rata-rata sebesar 2,52 \pm 0,30 mg/dL dan kelompok dosis 2 sebesar 4,23 \pm 0,10 mg/dL. Kelompok dosis 1 mampu menurunkan kadar asam urat lebih besar daripada kelompok dosis 2 dan perbedaan kadar asam urat kedua kelompok tersebut sangat signifikan. Oleh karena itu, dosis 60 mg/200 g bb merupakan dosis optimal yang dapat menurunkan kadar asam urat pada uji pendahuluan dosis dan selanjutnya digunakan sebagai dosis acuan dalam penetapan dosis uji sebenarnya. Data lengkap hasil pengukuran kadar asam urat uji pendahuluan dosis dapat dilihat pada Tabel 4.8.

4.5.2 Uji Sebenarnya

Uji sebenarnya menggunakan enam kelompok perlakuan dengan masing-masing terdiri dari lima ekor tikus. Perhitungan dosis uji dapat dilihat pada Lampiran 8. Kelompok kontrol induksi merupakan kelompok yang memberikan gambaran kadar asam urat tertinggi setelah dua jam diinduksi dan kelompok kontrol normal merupakan kelompok yang memberikan gambaran kadar asam urat normal tikus.

Kelompok pembanding obat diberikan Alopurinol dosis 36 mg/200 g bb. Alopurinol merupakan obat yang digunakan sebagai pembanding karena memiliki mekanisme kerja yang sama dengan rimpang temu kunci dalam menurunkan

kadar asam urat, yaitu dengan cara menghambat xantin oksidase. Alopurinol akan mengalami metabolisme oleh xantin oksidase menjadi aloksantin yang memiliki waktu paruh lebih panjang daripada alopurinol (Katzung, Masters, & Trevor, 2009). Oleh karena itu, alopurinol hanya diberikan satu kali sehari. Kadar asam urat rata-rata semua kelompok pada uji sebenarnya dapat dilihat dalam Tabel 4.3 berikut ini dan Gambar 4.5.

Tabel 4.3. Kadar Asam Urat Rata-rata Semua Kelompok pada Hari Kedelapan Uji Sebenarnya

Kelompok	Rerata kadar asam urat \pm SD (mg/dL)
Dosis 1	1,12 \pm 0,11
Dosis 2	1,72 \pm 0,28
Dosis 3	2,02 \pm 0,22
Kontrol normal	0,30 \pm 0,09
Kontrol induksi	2,20 \pm 0,30
Pembanding obat	0,50 \pm 0,13

Keterangan: Dosis 1: rimpang temu kunci dosis 40 mg/200 g bb; Dosis 2: rimpang temu kunci dosis 60 mg/200 g bb; Dosis 3: rimpang temu kunci dosis 90 mg/200 g bb; Kontrol normal: larutan CMC 0,5%; Kontrol induksi: kalium oksonat dosis 50 mg/200 g bb; Pembanding obat: alopurinol dosis 36 mg/200 g bb

Berdasarkan data hasil pengukuran kadar asam urat pada Tabel 4.3 diatas, kadar asam urat rata-rata dari kelompok dosis 1, dosis 2, dosis 3, dan pembanding alopurinol berturut-turut adalah sebesar 1,12 \pm 0,11; 1,72 \pm 0,28; 2,02 \pm 0,22 dan 0,50 \pm 0,13 mg/dL. Berdasarkan data tersebut terlihat bahwa kadar asam urat rata-rata kelompok dosis ekstrak dan pembanding obat alopurinol memiliki nilai yang lebih kecil dibandingkan kontrol induksi, yaitu 2,20 \pm 0,30 mg/dL sehingga dapat disimpulkan bahwa keempat sediaan uji dapat menurunkan kadar asam urat. Kelompok pembanding obat alopurinol dapat menurunkan kadar asam urat hampir mencapai nilai normal, yaitu 0,30 \pm 0,09 mg/dL. Data lengkap hasil pengukuran kadar asam urat uji pendahuluan dosis dapat dilihat pada Tabel 4.9.

Data kadar asam urat yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan SPSS 19. Analisis data menunjukkan bahwa data terdistribusi normal (Lampiran 12) dan memiliki variasi yang homogen (Lampiran 13) sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA dan Beda Nyata terkecil (BNT) untuk melihat perbedaan yang bermakna dari setiap kelompok. Hasil analisis statistik uji ANOVA dan BNT dapat dilihat pada Lampiran 14 dan Lampiran 15.

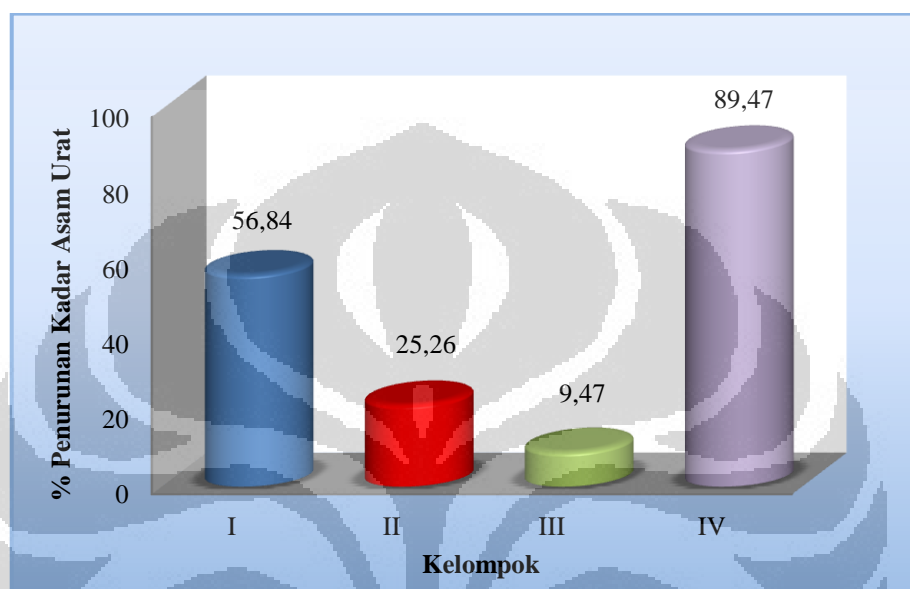
Hasil statistik BNT menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) kadar asam urat rata-rata kelompok pembanding obat alopurinol, kelompok normal, kelompok dosis 1, dan kelompok dosis 2 apabila dibandingkan dengan kontrol induksi. Kelompok dosis 3 tidak memiliki perbedaan bermakna ($p > 0,05$) terhadap kontrol induksi. Hasil ini menunjukkan bahwa secara statistik hanya kelompok dosis 1 dan dosis 2 yang dapat menurunkan kadar asam urat.

Kadar asam urat rata-rata pembanding obat alopurinol terhadap kontrol normal tidak memiliki perbedaan yang bermakna. Hasil ini menunjukkan bahwa pembanding obat alopurinol dapat menurunkan kadar asam urat hingga mencapai nilai normal. Kadar asam urat rata-rata ketiga kelompok dosis uji apabila dibandingkan dengan kontrol normal terlihat adanya perbedaan yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa semua dosis uji dapat menurunkan kadar asam urat, tetapi tidak dapat mencapai nilai normal.

Berdasarkan data kadar asam urat tersebut terlihat adanya nilai simpangan deviasi yang cukup besar pada beberapa kelompok. Hal ini dapat dipengaruhi oleh faktor variasi biologis dari setiap tikus yang tidak dapat sepenuhnya dikontrol oleh peneliti. Untuk itu diperlukan adanya peningkatan jumlah hewan uji yang digunakan.

Flavonoid merupakan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci yang diduga memiliki efek penghambatan aktivitas xantin oksidase, tetapi tidak semua flavonoid memiliki aktivitas tersebut. Flavonoid dengan subkelas flavon dan flavonol yang hanya memiliki aktivitas penghambatan xantin oksidase (Cos, et al., 1998). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dengan pasti senyawa yang berperan dalam penghambatan aktivitas xantin oksidase ini.

Hasil kadar asam urat setiap kelompok ini selanjutnya dihitung persentase penurunannya dengan menggunakan kadar asam urat rata-rata kelompok kontrol induksi dan kontrol normal sebagai standarnya. Perhitungan persentase penurunan kadar asam urat dapat dilihat pada Lampiran 10 dan Tabel 4.10. Persentase penurunan kadar asam urat ditunjukkan pada Gambar 4.2 berikut ini.

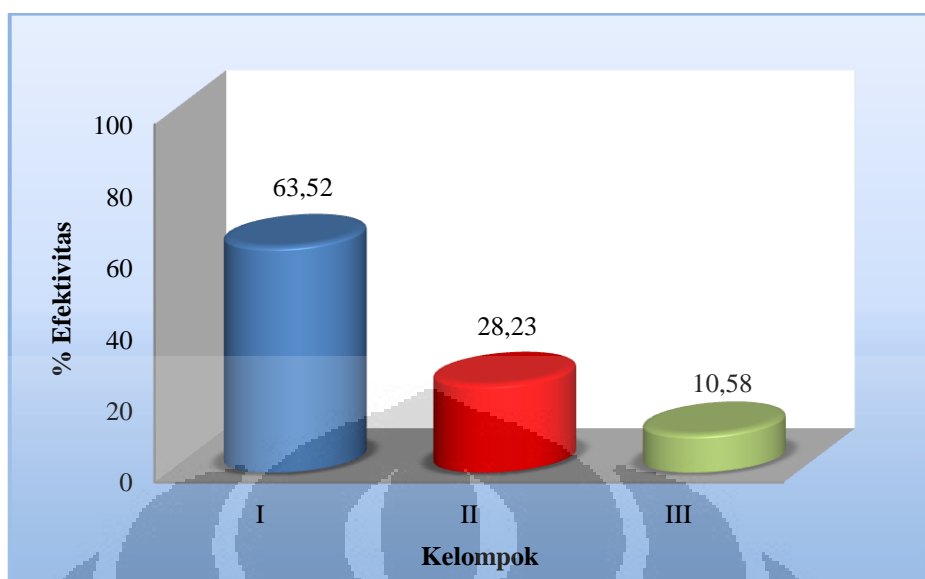


Keterangan: Kelompok I: Dosis ekstrak rimpang temu kunci 40 mg/200 g bb; Kelompok II: Dosis ekstrak rimpang temu kunci 60 mg/200 g bb; Kelompok III: Dosis ekstrak rimpang temu kunci 90 mg/200 g bb; Kelompok IV: Pembanding obat alopurinol dosis 36 mg/200 g bb

Gambar 4.2. Penurunan kadar asam urat rata-rata semua kelompok dosis dan pembanding obat alopurinol pada uji sebenarnya dibandingkan dengan kelompok normal

Berdasarkan gambar diatas, alopurinol memiliki nilai persentase penurunan kadar asam urat yang paling besar, yaitu 89,47% diikuti dengan dosis 1 sebesar 56,84%, dosis 2 sebesar 25,26%, dan dosis 3 sebesar 9,47%. Peningkatan dosis ekstrak berbanding terbalik dengan peningkatan persentase penurunan kadar asam urat.

Data penurunan kadar asam urat semua dosis uji selanjutnya dihitung efektifitas penurunan kadar asam urat semua kelompok dosis uji terhadap pembanding obat alopurinol. Persentase efektifitas penurunan kadar asam urat semua kelompok dosis terhadap pembanding obat alopurinol dapat dilihat pada Gambar 4.3 berikut ini.



Keterangan: Kelompok I: Dosis ekstrak rimpang temu kunci 40 mg/200 g bb; Kelompok II: Dosis ekstrak rimpang temu kunci 60 mg/200 g bb; Kelompok III: Dosis ekstrak rimpang temu kunci 90 mg/200 g bb

Gambar 4.3. Efektivitas penurunan kadar asam urat rata-rata semua kelompok dosis pada uji sebenarnya dibandingkan dengan kelompok pembanding obat alopurinol

Berdasarkan gambar diatas, dosis 1 memiliki nilai efektivitas penurunan kadar asam urat yang paling besar, yaitu 63,52%, diikuti dosis 2 sebesar 28,23%, dan dosis 3 sebesar 10,58%. Akan tetapi, persentase efektivitas semua dosis uji jauh lebih rendah dibandingkan persentase efektivitas alopurinol sebagai obat pembanding. Perhitungan persentase efektivitas penurunan kadar asam urat dapat dilihat pada Lampiran 11 dan Tabel 4.11.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci dapat menurunkan kadar asam urat, walaupun belum dapat mencapai kadar asam urat normal. Hasil ini selaras dengan hasil penelitian secara *in vitro* yang telah dilakukan sebelumnya, yaitu ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci mampu menghambat aktivitas xantin oksidase sehingga dapat menurunkan kadar asam urat (Darusman, Heryanto, Rafi, & Wahyuni, 2007).

BAB 5

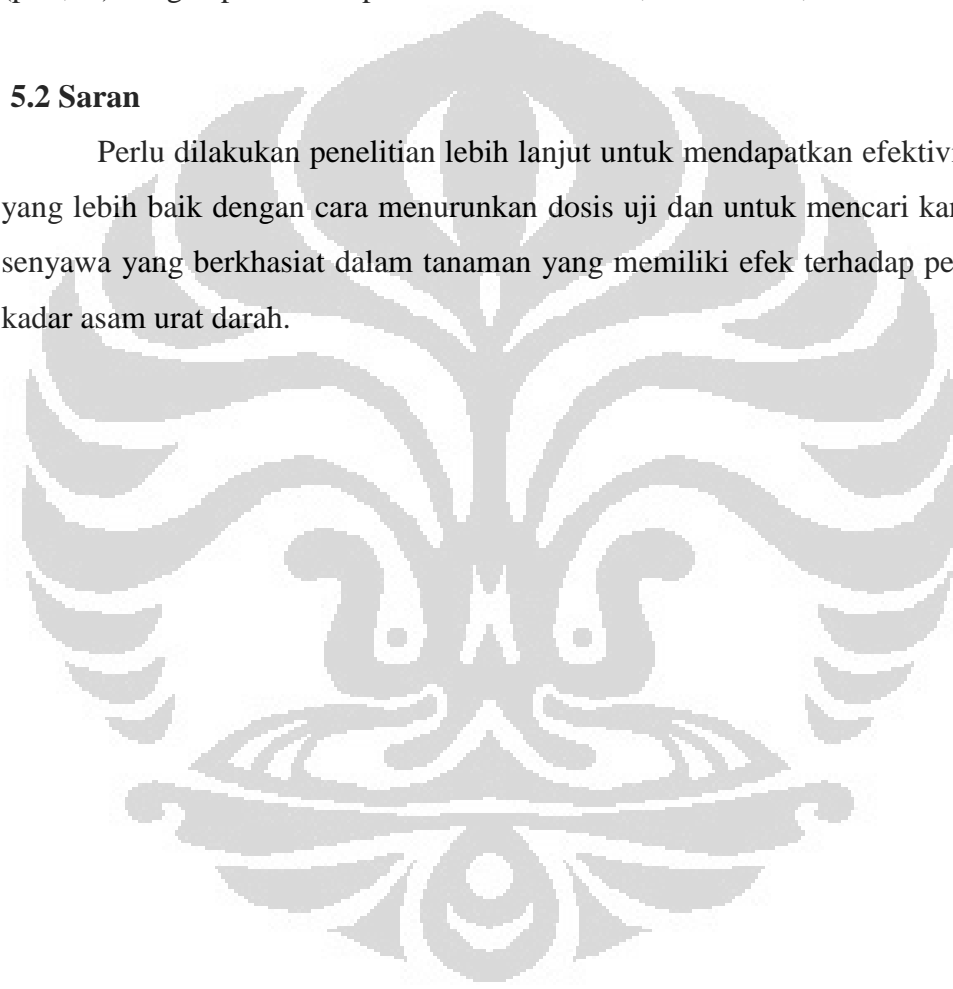
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci secara oral dengan dosis 40 dan 60 mg/200 g bb dapat menurunkan kadar asam urat darah tikus putih jantan secara bermakna ($p < 0,05$) dengan persentase penurunan sebesar 56,53% dan 22,05%.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan efektivitas obat yang lebih baik dengan cara menurunkan dosis uji dan untuk mencari kandungan senyawa yang berkhasiat dalam tanaman yang memiliki efek terhadap penurunan kadar asam urat darah.



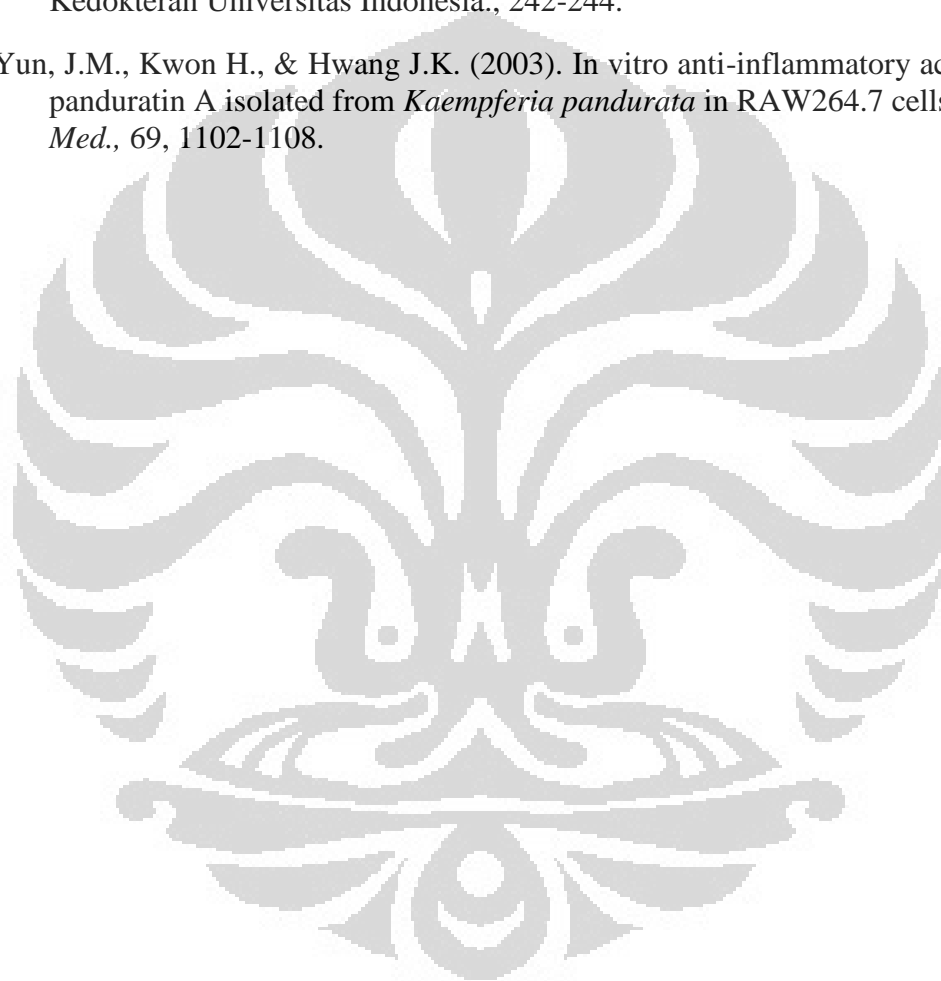
DAFTAR ACUAN


- B., Stavric & E.A., Nera. (1978). Use of the uricase-inhibited rat as an animal model in toxicology. *Clin. Toxicol*, 13(1), 47-74.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (Juli, 2005). *Standardisasi ekstrak tumbuhan obat indonesia, salah satu tahapan penting dalam pengembangan obat asli indonesia*. Jakarta: Badan POM RI., 1-5.
- Bandolier team. (2007). *An introduction to gout*. Februari 5, 2012. <http://www.medicine.ox.ac.uk/bandolier/booth/gout/goutintr.html>.
- Cai G.H., Yan J.S., Jun Z., Jian R.Z., Wen J.L., & Bin H.J. (2008). Hypouricemic effects 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. (2006). Gout. Dalam: Price, S.A. & Wilson, L.M. (Brahm U.P., Huriawati, H., Pita, W., & Dewi, A.M., Penerjemah). *Patofisiologi: konsep klinis proses-proses penyakit*. (Ed. 6, Vol. 2). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC., 1402-1406.
- Ching, A.Y.L., Wah, T.S., Sukari, M.A., Lian, G.B.C., Rahmani, M., & Khalid, K. (2007). Characterization of flavonoid derivatives from *Boesenbergia rotunda* (L.). *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 11(1), 154-159.
- Cos, P., et al. (1998). Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthin oxidase and superoxide scavengers. *J. Nat. Prod.*, 61(1), 71-76.
- Darusman, L.K., Heryanto, R., Rafi, M., & Wahyuni, W.T. (2007). Potensi daerah sidik jari spektrum inframerah sebagai penanda bioaktivitas ekstrak tanaman obat. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 12(3), 154-162.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995a). *Farmakope indonesia* (Ed. IV). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia., 7.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995b). *Materia medika indonesia* (Ed. VI). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia., 3-17.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope herbal indonesia* (Ed. I). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia., 147-150.
- Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. (2006). *Pharmaceutical care untuk pasien penyakit arthritis reumatik*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI., 54-80.

- Ernst, M.E. & Clark, E.C. (2011). Gout and hyperuricemia. In: DiPiro, J.T., Robert, L.T., Gary, C.Y., Gary, R.M., Barbara, G.W., & L. Michael (Ed.) *Pharmacotherapy a pathophysiologic approach* (8th ed.). USA: The McGraw-Hill Companies., 1621-1632.
- Fossati, P., Prencipe, L., & Berti, G. (1980). Use of 3,5-dichloro-2-hydroxy benzenesulfonic acid/4-ami nophenazone 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., 164-166.
- Geonadi, F.A., Fitria, M., Ayu, D.P., Sulistyorini, E., & Asyiah, Cancer Chemoprevention Research Center, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. (n.d). *Temu Kunci (Boesenbergia pandurata)*. Januari 25, 2012. http://www.ccrcc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=166
- Harborne, J.B. (1996). *Metode fitokimia: penuntun cara mudah menganalisa tumbuhan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung., 70.
- Hargono, D. (2000). Obat analgetik dan antiinflamasi nabati. *Majalah cermin dunia kedokteran, penyakit sendi*, (No. 129). 36-38.
- Harmita & Radji, M. (2008). *Buku ajar analisis hayati* (Ed. 3). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC., 66.
- Herbarium Bandungense, Institut Teknologi Bandung. (n.d). *Klasifikasi Tumbuhan Boesenbergia rotunda (L.) Mansfeld*. Januari 25, 2012. <http://www.sith.itb.ac.id/herbarium/index.php?c=herbs&view=detail&spid=198177>.
- Hoof, J. (2000). Methods of blood collection in the mouse. *Lab Animal*, 29(10), 50-51.
- Jelिकic-S., M., Djurdjevic, P., & Stankov, D. (2003). Determination of uric acid in human serum by an enzimatik method using N-methyl-N-(4-aminophenyl)-3-methoxyaniline reagent. *J. Serb. Chem. Soc.*, 6(8-9), 691-698.
- Jusman, S.W. & Halim, A. (2009). Oxidative stress in liver tissue of rat induced by chronic systemic hypoxia. *Makara Kesehatan*, 13(1), 34-38.
- Katno. (2008). *Tingkat manfaat, keamanan, dan efektifitas tanaman obat dan obat tradisional*. Jawa Tengah: Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional., 3-5.
- Katzung, B.G., Masters, S.B., & Trevor, A.J. (2009). *Basic and clinical pharmacology* (11th ed.). New York: McGraw-Hill., 818-826.
- Mazzali, et al. (2001). Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by a novel crystal-independent mechanism. *Hypertension*, 35, 1101-1106.

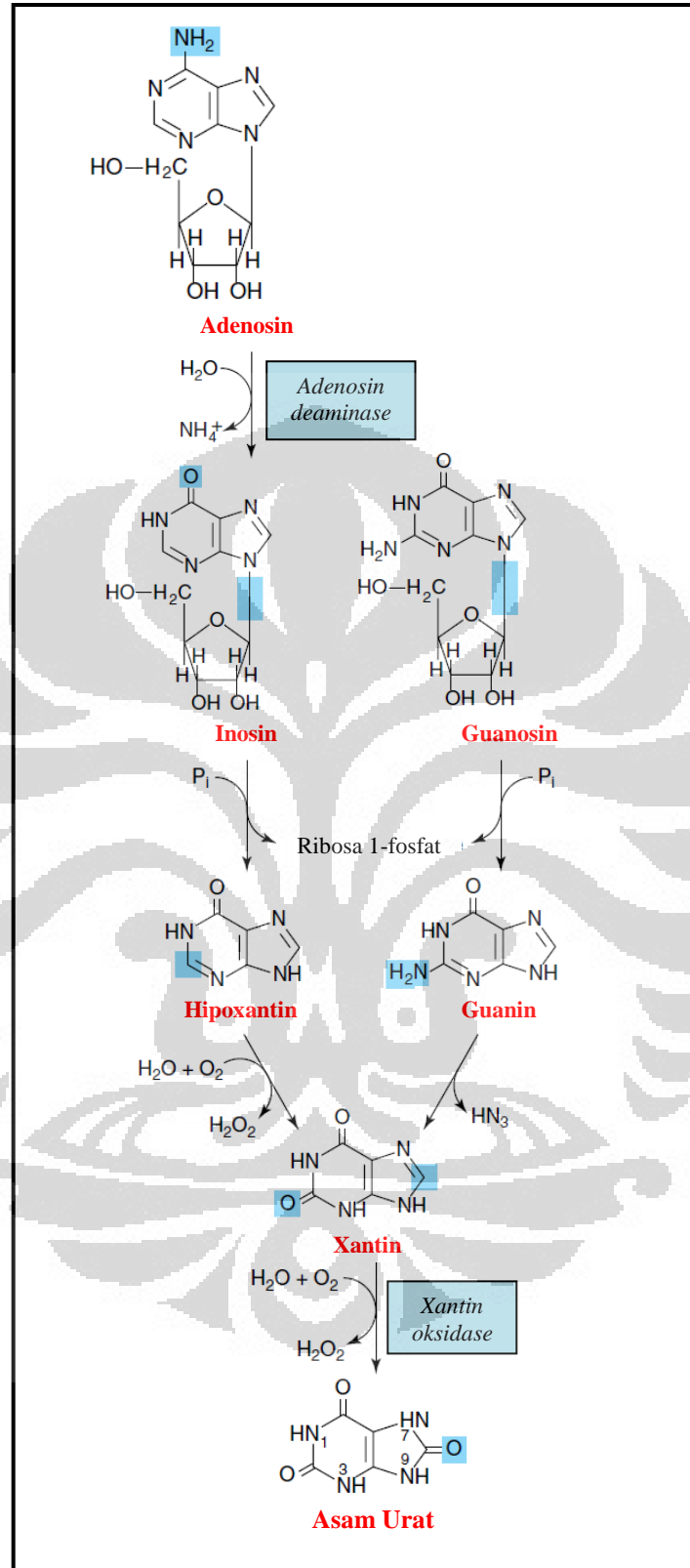
- Muhlisah, F. (1999). *Temu-temuan & empon-empon, budidaya dan manfaatnya*. Yogyakarta: Kanisius., 64-67.
- National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases. (2010). *Questions and answers about gout*. Februari 6, 2012. http://www.niams.nih.gov/Health_Info/Gout/default.asp
- Neogy, T. (2011). Gout. *N. Engl. J. Med.*, 364(5), 443-452.
- Osada, et al. (1993). Hypouricemic effect of the novel xantine oxidase inhibitor, TEI-6720, in Rodent. *Eur. J. Pharmacol.*, 241, 183-188.
- Pittman, J.R.. & Bross, M.H. (1999). Diagnosis and management of gout, *Am. Fam. Physician*, 59(7), 1799-1806.
- Purwatiningsih, Hakim, A.R., & Purwantini, I. (2010). Antihyperuricemic activity of the kepel [*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F. & th.] leaves extract and xanthine oxidase inhibitory study. *Int. J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 2(2), 123-127.
- Putra, T.R. (2006). Hiperurisemia. Dalam: Sudoyo, W.A., Setiyohadi, B., & Alwi, I. *Buku ajar ilmu penyakit dalam* (Ed. 4). Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam., 1213-1218.
- Rinaudo, C. & Boistelle, R. (1982). Theoretical and experimental growth morphologies of sodium urate crystals. *J. Cryst. Growth*, 57, 432-442.
- Rodwell, V.W. (2006). Metabolism of purine & pirimidine nucleotides. In: Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., & Rodwell, V.W. *Harper's illustrated biochemistry*. (27th ed.). New York: The McGraw-Hill Company., 125-129.
- Rukmana, R. (2008). *Temu-temuan, apotik hidup di pekarangan*. Yogyakarta: Kanisius., 17-19.
- Sohn, J.H., Han, K.L., Lee, S.H., & Hwang J.K. (2005). Protective effects of panduratin against oxidative damage of tert-butylhydroperoxide in human hepg2 cells. *Biol. Pharm. Bull.*, 28 (6), 1083-1086.
- Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S., Karalai, C., Ponglimanont, C., & Cheenpracha, S. 2009. Anti-inflammatory effects of compounds from *Kaempferia parviflora* and *Boesenbergia pandurata*. *J. Food Chem.*, 115, 534-538.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: a review. *Int. Pharm. Sci.*, 1(1), 98-106.
- Trihendradi, C. (2011). *Langkah mudah melakukan analisis statistik menggunakan SPSS 19*. Yogyakarta: Penerbit Andi., 59-65, 105-111.
- Tuchinda, P., et al. (2002). Anti-inflammatory cyclohexenyl chalcone derivatives in *Boesenbergia pandurata*. *Phytochemistry*, 59, 169-173.

- United States Department of Agriculture. (2000). *Plants profile Boesenbergia rotunda (L.) Mansf.* Februari 5, 2012. <http://plants.usda.gov/java/nameSearch>
- 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. & Gunawan, S.G. (2007). Analgesik-antipiretik, analgesik anti-inflamasi nonsteroid dan obat gangguan sendi lainnya. Dalam: Gunawan, S.G., Setiabudy, R., Nafrialdy, & Elysabeth (Ed.). *Farmakologi dan terapi* (Ed. 5). Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia., 242-244.
- Yun, J.M., Kwon H., & Hwang J.K. (2003). In vitro anti-inflammatory activity of panduratin A isolated from *Kaempferia pandurata* in RAW264.7 cells. *Planta Med.*, 69, 1102-1108.



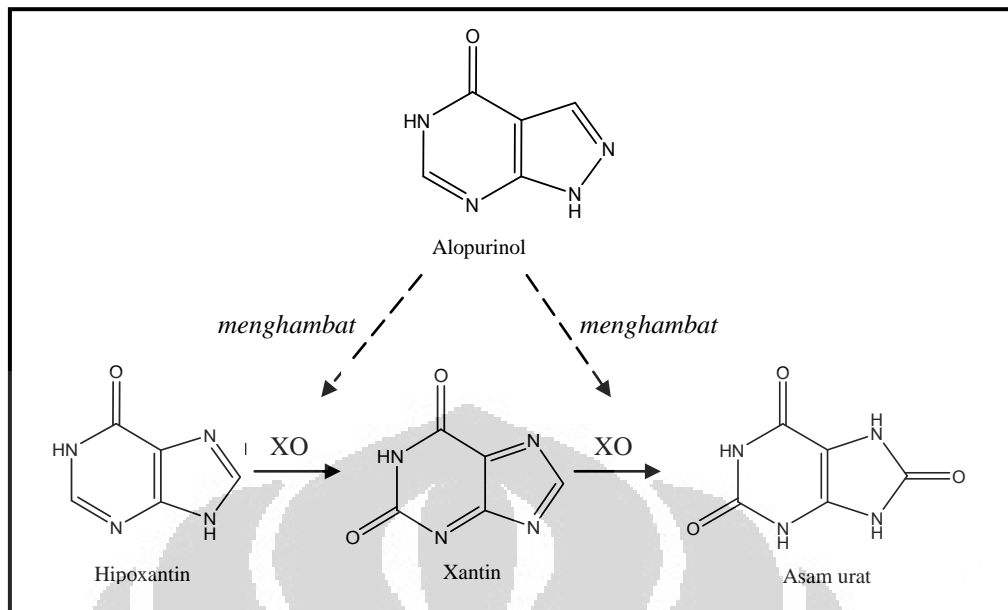


GAMBAR



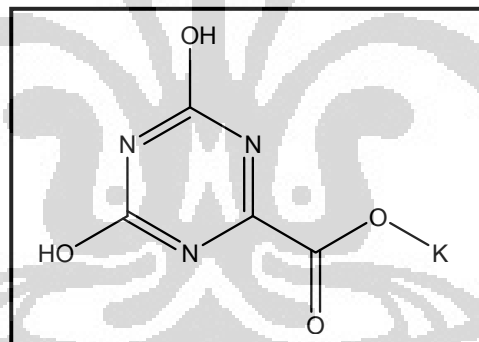
[Sumber: Rodwell, 2006, telah dioleh kembali]

Gambar 2.1. Pembentukan asam urat dari nukleosida purin



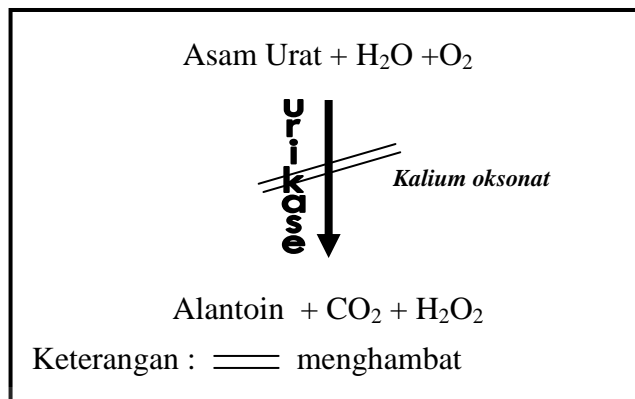
[Sumber: Katzung, Masters, & Trevor, 2009, telah diolah kembali]

Gambar 2.2. Mekanisme kerja allopurinol dalam menghambat xantin oksidase



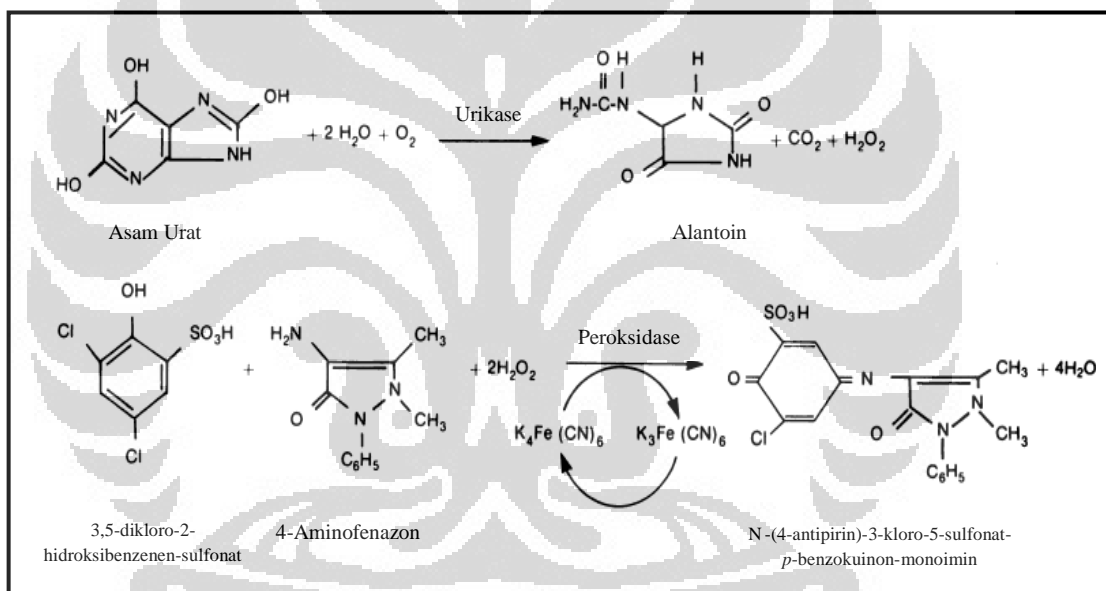
[Sumber: Sigma Aldrich]

Gambar 2.3. Struktur kalium oksonat



[Sumber: Mazzali, *et al.*, 2006, telah diolah kembali]

Gambar 2.4. Mekanisme aksi kalium oksonat meningkatkan kadar asam urat



[Sumber: Fossati, Prencipe, & Berti, 1980, telah diolah kembali]

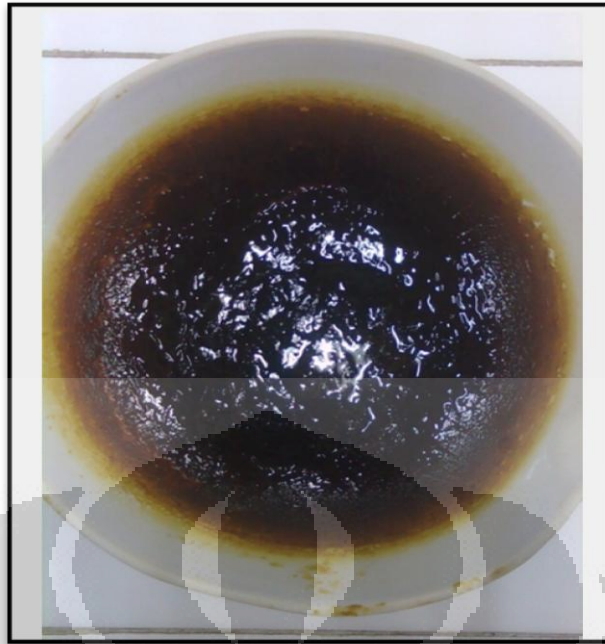
Gambar 2.5. Reaksi pada pengukuran kadar asam urat dengan metode kolorimetri enzimatis



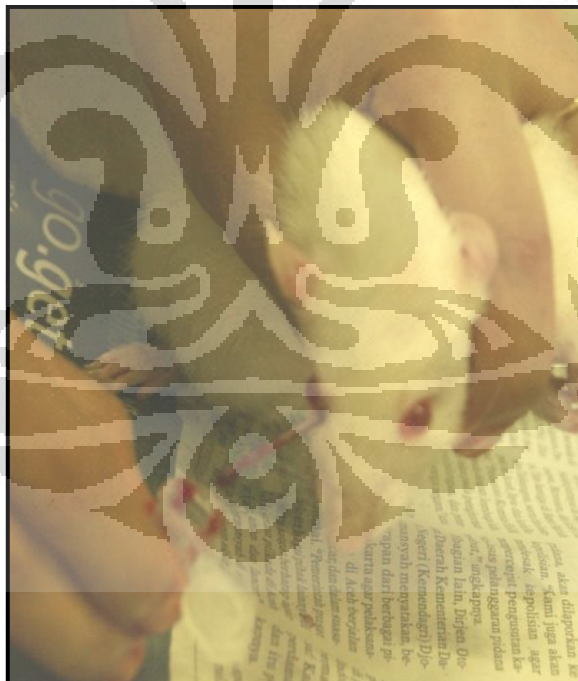
Gambar 3.1. Rimpang temu kunci



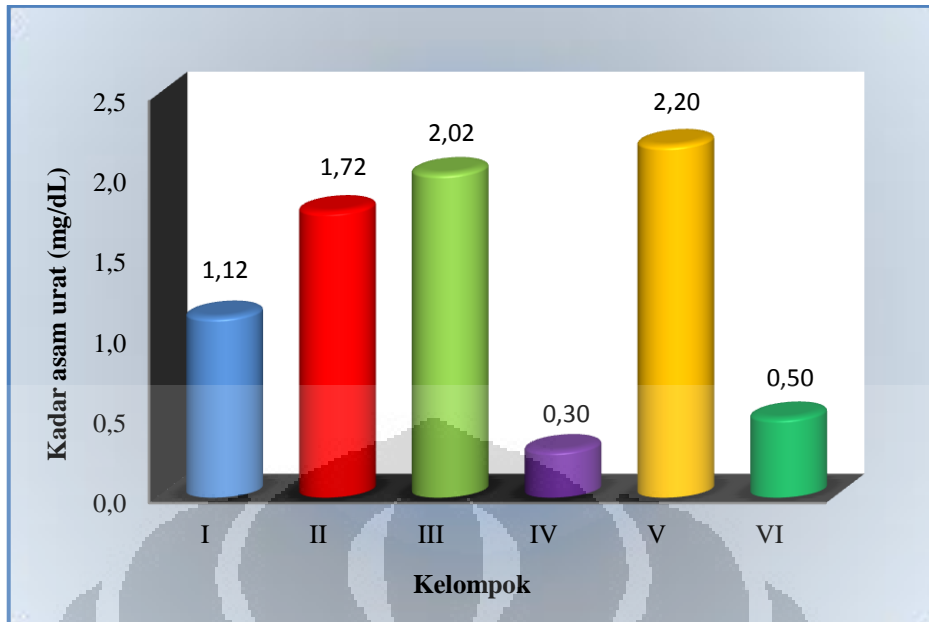
Gambar 3.2. Serbuk simplisia rimpang temu kunci



Gambar 4.3. Ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci



Gambar 4.4. Pengambilan darah melalui sinus orbital mata



Keterangan: Kelompok I: Dosis ekstrak rimpang temu kunci 40 mg/200 g bb; Kelompok II: Dosis ekstrak rimpang temu kunci 60 mg/200 g bb; Kelompok III: Dosis ekstrak rimpang temu kunci 90 mg/200 g bb; Kelompok IV: Kontrol normal; Kelompok V: Kontrol induksi; Kelompok VI: Pembanding obat alopurinol 36 mg/200 g bb

Gambar 4.5. Kadar asam urat rata-rata semua kelompok pada hari kedelapan uji sebenarnya



Tabel 4.4. Hasil Skrining Fitokimia

Identifikasi	Tes	Hasil Pengamatan	Kesimpulan
Alkaloid	Dragendorf	Tidak terbentuk endapan	Negatif Alkaloid
	Mayer	Tidak terbentuk endapan	
	Bourchardat	Terbentuk endapan putih	
Flavonoid	Shinoda dengan Zn	Terbentuk warna merah intensif	Positif Flavonoid
	Shinoda dengan Mg	Terbentuk warna merah jingga	
Fenol	FeCl ₃	Terbentuk warna biru hitam	Positif Fenol
Glikosida Antrakuinon	Molish	Terbentuk cincin ungu	Positif Glikosida, Negatif antrakuinon
	Bontrager termodifikasi	Lapisan benzen tidak berwarna kuning dan tidak terjadi perubahan warna setelah ditambah amonia encer	
Saponin	Busa	Terbentuk busa mantap setinggi 2 cm dan tidak hilang setelah ditambah HCl encer	Positif Saponin
Tanin	Gelatin/NaCl	Tidak terbentuk endapan	Negatif Tanin
	Pb (CH ₃ COOH) ₂	Tidak terbentuk endapan	
Terpen	Liebermann-Burchard	Tidak terbentuk warna hijau	Negatif Terpen

Tabel 4.5. Susut Pengeringan Ekstrak

No	Berat (gram)		Susut pengeringan (%)
	Ekstrak	Susut ekstrak	
1	1,3215	0,3091	23,39
2	1,5615	0,3600	23,05
3	1,2247	0,2848	23,25
Rata-rata ± SD			23,23 ± 0,17

Tabel 4.6. Kadar Abu Total

No	Berat (gram)			Kadar abu total (%)
	Ekstrak	Simplisia	Sisa abu	
1	2,0089	16,4260	0,2268	1,38
2	2,0321	16,6157	0,2450	1,47
3	2,1576	17,6419	0,2503	1,42
Rata-rata ± SD				1,42 ± 0,04

Tabel 4.7. Data Hasil Pengukuran Kadar Asam Urat Semua Kelompok pada Optimasi Dosis Kalium Oksonat

Kelompok	Serapan (Å)	Kadar asam urat (mg/dL)	Rata-rata ± SD (mg/dL)
Dosis 1	0,145	4,7297	4,53 ± 0,18
	0,138	4,4805	
	0,135	4,3831	
Dosis 2	0,147	4,7727	4,62 ± 0,35
	0,150	4,8701	
	0,130	4,2208	
Kontrol normal	0,038	1,2338	1,07 ± 0,14
	0,031	1,0065	
	0,030	0,9740	

Keterangan: Dosis 1: kalium oksonat dosis 50 mg/200 g bb; Dosis 2: kalium oksonat dosis 62,5 mg/200 g bb; Kontrol normal: larutan CMC 0,5%

Tabel 4.8. Data Hasil Pengukuran Kadar Asam Urat Semua Kelompok pada Hari Kedelapan Uji Pendahuluan Dosis

Kelompok	Serapan (Å)	Kadar asam urat (mg/dL)	Rata-rata ± SD (mg/dL)
Dosis 1	0,084	2,7273	2,52 ± 0,30
	0,067	2,1753	
	0,082	2,6623	
Dosis 2	0,127	4,1234	4,23 ± 0,10
	0,133	4,3182	
	0,131	4,2532	
Kontrol normal	0,008	0,2597	0,32 ± 0,09
	0,013	0,4221	
	0,009	0,2922	
Pembanding obat	0,019	0,6169	0,69 ± 0,25
	0,030	0,9740	
	0,015	0,4870	

Keterangan: Dosis 1: rimpang temu kunci dosis 60 mg/200 g bb; Dosis 2: rimpang temu kunci dosis 120 mg/200 g bb; Kontrol normal: larutan CMC 0,5%; Pembanding obat: alopurinol dosis 36 mg/200 g bb

Tabel 4.9. Data Hasil Pengukuran Kadar Asam Urat Semua Kelompok pada Hari Kedelapan Uji Sebenarnya

Kelompok	Serapan (Å)	Kadar asam urat (mg/dL)	Rata-rata ± SD (mg/dL)
Dosis 1	0,033	1,0714	1,12 ± 0,11
	0,039	1,2662	
	0,037	1,2013	
	0,031	1,0065	
	0,033	1,0714	
Dosis 2	0,048	1,5747	1,72 ± 0,28
	0,047	1,5260	
	0,042	1,3636	
	0,065	2,1104	
	0,056	1,8182	
Dosis 3	0,062	2,0130	2,02 ± 0,22
	0,071	2,3052	
	0,066	2,1429	
	0,058	1,8831	
	0,053	1,7370	
Kontrol normal	0,007	0,2151	0,30 ± 0,09
	0,011	0,3571	
	0,009	0,2922	
	0,013	0,4221	
	0,006	0,1948	
Kontrol induksi	0,072	2,3377	2,20 ± 0,30
	0,078	2,5325	
	0,072	2,3377	
	0,059	1,9176	
	0,057	1,8506	
Pembanding obat	0,014	0,4659	0,50 ± 0,13
	0,013	0,4221	
	0,021	0,6818	
	0,017	0,5519	
	0,011	0,3571	


Keterangan: Dosis 1: rimpang temu kunci dosis 40 mg/200 g bb; Dosis 2: rimpang temu kunci dosis 60 mg/200 g bb; Dosis 3: rimpang temu kunci dosis 90 mg/200 g bb; Kontrol normal: larutan CMC 0,5%; Kontrol induksi: kalium oksonat dosis 50 mg/200 g bb; Pembanding obat: alopurinol dosis 36 mg/200 g bb

Tabel 4.10. Persentase Penurunan Kadar Asam Urat Rata-Rata Kelompok Dosis dan Pembanding Alopurinol Uji Sebenarnya Dibandingkan dengan Kelompok Normal

Kelompok	% Penurunan
Dosis 1	56,53
Dosis 2	22,05
Dosis 3	9,60
Pembanding Alopurinol	89,51

Tabel 4.11. Persentase Efektivitas Penurunan Kadar Asam Urat Rata-Rata Kelompok Dosis Uji Sebenarnya Dibandingkan dengan Kelompok Pembanding Obat Alopurinol


Kelompok	% Efektivitas
Dosis 1	63,15
Dosis 2	24,63
Dosis 3	10,73



LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi Tanaman Temu Kunci

Cibinong, 15 Maret 2012



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

Nomor : 400/IPH.1.02/If.8/III/2012
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). Putri Wahyu Utami
NPM : 0806327976
Mhs. Univ. Indonesia
Fak. MIPA
Kampus UI Depok, 16424

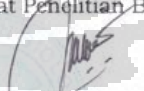
Dengan hormat,

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

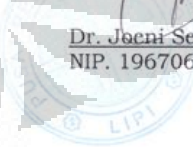
No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Temu Kunci	<i>Boesenbergia rotunda</i> (L.) Mansf.	Zingiberaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,






Dr. Jaeni Setijoe Rahajoe
NIP. 196706241993032004



D:\Ident 2012\Putri Wahyu Utami.doc\IS-DG

Page 1 of 1

Lampiran 2. Surat Keterangan Tikus Putih Galur *Sprague-Dawley*

	<p>BAGIAN PRODUKSI TERNAK DAGING KERJA DAN ANEKA TERNAK DEPARTEMEN ILMU PRODUKSI DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN FAKULTAS PETERNAKAN INSTITUT PERTANIAN BOGOR</p>
	<p>Sekretariat : Jl. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680 Telepon : (0251) 8624774, Fax. (0251) 8624774</p>
<p><u>SURAT KETERANGAN</u></p>	
<p>Yang bertanda tangan dibawah ini:</p>	
Nama	: Dr. Ir. Asnath M Fuah, MS
Jabatan	: Kepala Bagian Produksi Ternak Daging Kerja dan Aneka Ternak
Alamat	: Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga-Bogor
	Telp. 0251-8624774, Fax. 0251-8624774
<p>Menyatakan bahwa tikus putih (<i>Rattus novvergicus</i>) strain <i>sprague dawley</i> (SD) yang dikembangkan di Laboratorium Aneka Ternak, Fakultas Peternakan IPB, Telah memenuhi syarat sebagai hewan uji untuk penelitian atau kegiatan praktikum.</p>	
<p>Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenar-benarnya.</p>	
<p>Bogor 8 maret 2012</p>	
<p>Kepala Bagian Produksi Ternak Daging, Kerja dan Aneka Ternak</p>	
	
<p> Dr. Ir. Asnath M. Fuah, MS NIP.195410151979032001</p>	

Lampiran 3. Sertifikasi 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	SPESIFIKASI	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

Bandung, 13 Juli 2011

Penanggung Jawab : MPM  (Dra. Titin Supiamah)	AMPM  (Dra. Endang Widiastuti)
---	---

Jl. Pajajaran No. 29 -31
 Bandung 40171
 Halaman 1 dari 1
 Indonesia
 Telp. (022) 4204043, 4204044
 Fax. (022) 4237079
 Plantbdg@bdg.centrin.net.id

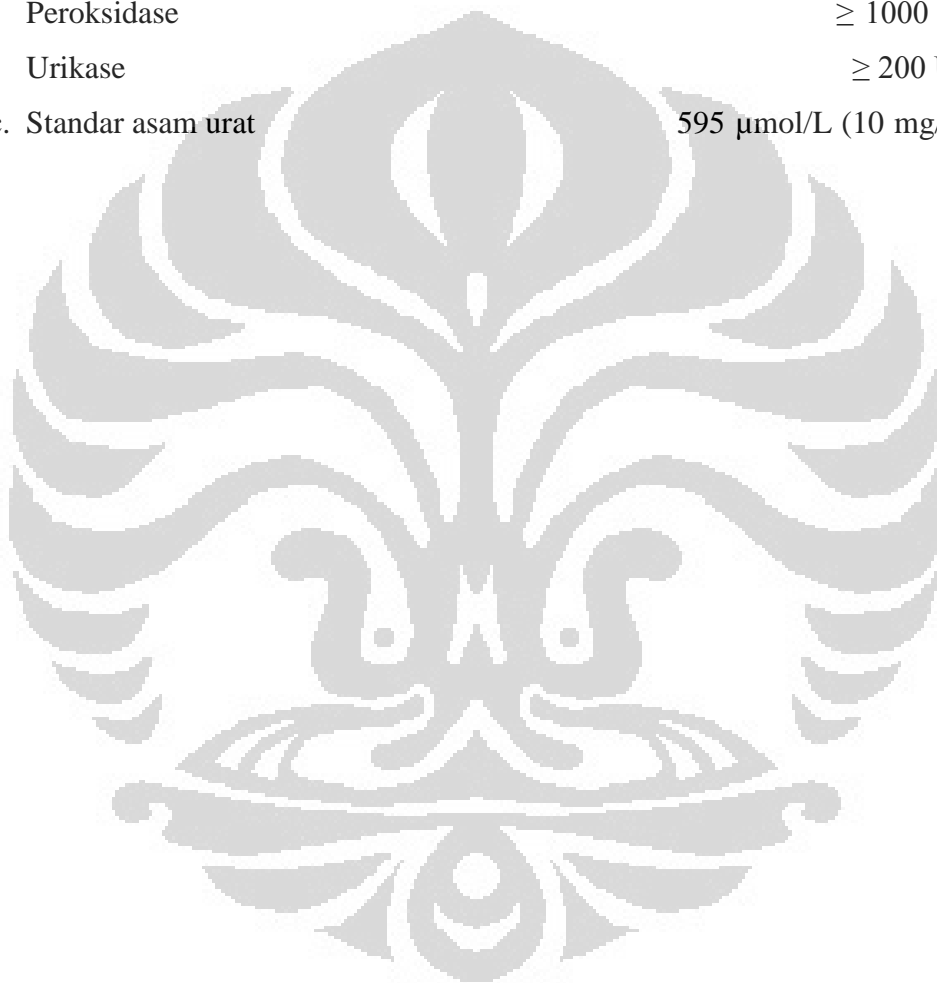
Lampiran 4. Kandungan Pereaksi Asam Urat Randox

a. Larutan Dapar

Dapar Hepes pH 7.0	50 mmol/L
Asam 3,5-dikloro-2-hidroksi-benzensulfonat	4 mmol/L

b. Pereaksi enzim

4-Aminofenazon	0,25 mmol/L
Peroksidase	≥ 1000 U/L
Urikase	≥ 200 U/L

c. Standar asam urat 595 μ mol/L (10 mg/dL)

Lampiran 5. Perhitungan Susut Pengerinan Ekstrak

Rumus perhitungan susut pengerinan ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci

$$\% \text{ Susut Pengerinan} = \frac{\text{bobot ekstrak awal} - \text{bobot ekstrak akhir}}{\text{bobot ekstrak awal}} \times 100\%$$

Susut pengerinan sampel 1

$$= \frac{1,3215 - 1,0124}{1,3215} \times 100\% = 23,39\%$$

Susut pengerinan sampel 2

$$= \frac{1,5615 - 1,2015}{1,5615} \times 100\% = 23,05\%$$

Susut pengerinan sampel 3

$$= \frac{1,2247 - 0,9399}{1,2247} \times 100\% = 23,25\%$$

Lampiran 6. Perhitungan Kadar Abu Total Ekstrak

Rumus perhitungan kadar abu total ekstrak etanol 70% rimpang temu kunci

$$\% \text{ Kadar Abu Total} = \frac{\text{Sisa abu}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

Bobot simplisia didapatkan dari bobot ekstrak awal dibagi rendemen ekstrak, yaitu 12,23%

Kadar abu total sampel 1

$$= \frac{0,2268}{16,4260} \times 100\% = 1,38\%$$

Kadar abu total sampel 2

$$= \frac{0,2450}{16,6157} \times 100\% = 1,47\%$$

Kadar abu total sampel 3

$$= \frac{0,2503}{17,6419} \times 100\% = 1,42\%$$

Lampiran 7. Perhitungan Dosis pada Uji Pendahuluan Dosis

Dosis rimpang temu kunci yang digunakan pada uji pendahuluan dosis berdasarkan pada dosis penelitian efek antiinflamasi yang telah dilaporkan sebelumnya, yaitu dosis 300 mg ekstrak/kg bb tikus secara per oral (Hargono, 2000). Dosis ini setara dengan 60 mg ekstrak/200 g bb tikus. Dosis penggunaan pada pengobatan asam urat secara empiris tidak ditemukan dalam berbagai literatur sehingga pada penelitian ini digunakan dosis berdasarkan penelitian efek antiinflamasi.

Dosis 1: 1 x dosis Acuan

$$1 \times 60 \text{ mg}/200 \text{ g bb} = 60 \text{ mg}/200 \text{ g bb}$$

Dosis 2: 2 x dosis I

$$2 \times 60 \text{ mg}/200 \text{ g bb} = 120 \text{ mg}/200 \text{ g bb}$$

Setiap dosis ekstrak dibuat sediaan suspensi dengan larutan CMC 0,5%.

Lampiran 8. Perhitungan Dosis pada Uji Sebenarnya

Dosis rimpang temu kunci yang digunakan berdasarkan dosis efektif dari hasil uji pendahuluan dosis ekstrak, yaitu dosis 60 mg/200 g bb. Dari uji pendahuluan dosis terlihat bahwa peningkatan dosis sebesar dua kali dari dosis pertama tidak menunjukkan penurunan kadar asam urat yang lebih besar. Oleh karena itu, variasi dosis pada uji sebenarnya menjadi:

Dosis 1: $\frac{2}{3}$ x dosis II

$$\frac{2}{3} \times 60 \text{ mg/200 g bb} = 40 \text{ mg/200 g bb}$$

Dosis 2: 1 x dosis efektif

$$1 \times 60 \text{ mg/200 g bb} = 60 \text{ mg/200 g bb}$$

Dosis 3: $\frac{3}{2}$ x dosis II

$$\frac{3}{2} \times 60 \text{ mg/200 g bb} = 90 \text{ mg/200 g bb}$$

Setiap dosis ekstrak dibuat sediaan suspensi dengan larutan CMC 0,5%.

Lampiran 9. Pembuatan Sediaan Uji Pada Uji Sebenarnya

Volum per oral semua sediaan uji yang diberikan adalah 3 mL/200 g bb tikus dalam bentuk tersuspensi dalam larutan CMC 0,5%.

Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus sehingga volume minimal yang dibuat adalah $5 \times 3 \text{ mL} = 15 \text{ mL}$. Namun, sediaan yang dibuat setiap hari dilebihkan dari volume minimal yang dibutuhkan, yaitu sebanyak 20 mL.

Berikut ini adalah jumlah penimbangan setiap bahan uji:

Ekstrak dosis I : $40 \text{ mg}/3 \text{ mL} \times 20 \text{ mL} = 267 \text{ mg}$

Ekstrak dosis II : $60 \text{ mg}/3 \text{ mL} \times 20 \text{ mL} = 400 \text{ mg}$

Ekstrak dosis III : $90 \text{ mg}/3 \text{ mL} \times 20 \text{ mL} = 600 \text{ mg}$

Pembanding Alopurinol : $36 \text{ mg}/3 \text{ mL} \times 20 \text{ mL} = 240 \text{ mg}$

Setiap bahan uji yang ditimbang kemudian disuspensikan ke dalam CMC 0,5%, lalu di ad hingga volume akhir 20 mL. Jumlah CMC 0,5% yang dibutuhkan setiap hari adalah $6 \times 20 \text{ mL} = 120 \text{ mL}$, tetapi larutan CMC 0,5% yang dibuat sebanyak 150 mL setiap harinya.

Sebanyak 750 mg serbuk CMC ditimbang dan ditaburkan dalam lumpang yang berisi akuades hangat suhu $60\text{-}70^{\circ}\text{C}$ sejumlah 20 kalinya. Didiamkan selama kurang lebih 15 menit hingga CMC mengembang, lalu digerus hingga homogen dan ditambahkan akuades hingga volume 150 mL.

Kalium oksonat sebagai penginduksi juga dibuat dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5% dengan volume pemberian 2 mL/200 g bb. Dosis yang digunakan adalah 50 mg/200 g bb sehingga sediaan yang dibuat memiliki konsentrasi 25 mg/mL.

Lampiran 10. Perhitungan Persentase Penurunan Kadar Asam Urat Kelompok Dosis dan Pembanding Alopurinol Terhadap Kontrol Normal

Rumus perhitungan persentase penurunan

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

Berdasarkan data penelitian, kadar rata-rata induksi = 2,20 mg/dL dan kadar normal rata-rata = 0,30 mg/dL

Perhitungan % penurunan kadar asam urat:

$$\% \text{ penurunan dosis 1} = \frac{2,20 - 1,12}{2,20 - 0,30} \times 100\% = 56,84\%$$

$$\% \text{ penurunan dosis 2} = \frac{2,20 - 1,72}{2,20 - 0,30} \times 100\% = 25,26\%$$

$$\% \text{ penurunan dosis 3} = \frac{2,20 - 2,02}{2,20 - 0,30} \times 100\% = 9,47\%$$

$$\% \text{ penurunan alopurinol} = \frac{2,20 - 0,50}{2,20 - 0,30} \times 100\% = 89,47\%$$

Lampiran 11. Perhitungan Persentase Efektivitas Penurunan Kadar Asam Urat
Kelompok Dosis Terhadap Pembanding Alopurinol

Rumus perhitungan efektivitas

$$\% \text{ efektivitas} = \frac{\% \text{ penurunan sampel}}{\% \text{ penurunan alopurinol}} \times 100\%$$

Perhitungan % efektivitas:

$$\% \text{ efektivitas dosis 1} = \frac{56,84}{89,47} \times 100\% = 63,52\%$$

$$\% \text{ efektivitas dosis 2} = \frac{25,26}{89,47} \times 100\% = 28,23\%$$

$$\% \text{ efektivitas dosis 3} = \frac{9,47}{89,47} \times 100\% = 10,58\%$$

Lampiran 12. Uji Normalitas *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 tidak terdistribusi normal
- c. Uji statistik: Tes normalitas *Saphiro – Wilk*
- d. Kriteria uji :
- Jika signifikansi $< 0,05$, maka Ho ditolak
- Jika signifikansi $> 0,05$, maka Ho diterima
- e. Hasil :

Kelompok	Saphiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Dosis 1	,287	5	,489
Dosis 2	,168	5	,980
Dosis 3	,127	5	,989
Kontrol normal	,202	5	,686
Kontrol induksi	,285	5	,302
Pembanding alopurinol	,194	5	,841

Nilai signifikansi dalam tiap kelompok $> 0,05$

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

Lampiran 13. 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 tidak bervariasi homogen
- c. Uji statistik: Uji *Levene*
- d. Kriteria uji :
- Jika signifikansi $< 0,05$, maka Ho ditolak
- Jika signifikansi $> 0,05$, maka Ho diterima
- e. Hasil :

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,601	5	24	,051

Nilai signifikansi $> 0,05$

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

Lampiran 14. 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 plasma tikus setiap kelompok perlakuan
- b. Hipotesis :
- Ho = Tidak terdapat perbedaan bermakna terhadap kadar asam urat plasma tikus tiap kelompok perlakuan
- Ha = Terdapat perbedaan bermakna terhadap kadar asam urat plasma tikus tiap kelompok perlakuan
- c. Uji statistik: Uji F
- d. Kriteria uji :
- Jika signifikansi $< 0,05$, maka Ho ditolak
- Jika signifikansi $> 0,05$, maka Ho diterima
- e. Hasil :

	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5	3,179	76,156	,000
Within Groups	24	,042		
Total	29			

Nilai signifikansi $< 0,05$

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

Lampiran 15. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Terhadap Seluruh Kelompok Uji

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Dosis 1	Dosis 2	-,6006600*	,1292241	,000	-,867365	-,333955
	Dosis 3	-,8928800*	,1292241	,000	-1,159585	-,626175
	Kontrol normal	,8271000*	,1292241	,000	,560395	1,093805
	Kontrol induksi	-1,0718600*	,1292241	,000	-1,338565	-,805155
	Pembanding alopurinol	,6276000*	,1292241	,000	,360895	,894305
Dosis 2	Dosis 1	,6558400*	,1292241	,000	,333955	,867365
	Dosis 3	-,2370400*	,1292241	,033	-,558925	-,025515
	Kontrol normal	1,4847800*	,1292241	,000	1,161055	1,694465
	Kontrol induksi	-,4116400*	,1292241	,001	-,737905	-,204495
	Pembanding alopurinol	1,2834400*	,1292241	,000	,961555	1,494965
Dosis 3	Dosis 1	,8928800*	,1292241	,000	,626175	1,159585
	Dosis 2	,2370400*	,1292241	,033	,025515	,558925
	Kontrol normal	1,7218200*	,1292241	,000	1,453275	1,986685
	Kontrol induksi	-,17460000	,1292241	,179	-,445685	,087725
	Pembanding alopurinol	1,5204800*	,1292241	,000	1,253775	1,787185
Kontrol normal	Dosis 1	-,8289400*	,1292241	,000	-1,093805	-,560395
	Dosis 2	-1,4847800*	,1292241	,000	-1,694465	-1,161055
	Dosis 3	-1,7218200*	,1292241	,000	-1,986685	-1,453275
	Kontrol induksi	-1,8964200*	,1292241	,000	-2,165665	-1,632255
	Pembanding alopurinol	-,203400	,1292241	,136	-,466205	,067205

(lanjutan)

Kontrol induksi	Dosis 1	1,0674800*	,1292241	,000	,805155	1,338565
	Dosis 2	,4116400*	,1292241	,001	,204495	,737905
	Dosis 3	,1746000	,1292241	,179	-,087725	,445685
	Kontrol normal	1,8964200*	,1292241	,000	1,632255	2,165665
	Pembanding alopurinol	1,6950800*	,1292241	,000	1,432755	1,966165
Pembanding alopurinol	Dosis 1	-,6276000*	,1292241	,000	-,894305	-,360895
	Dosis 2	-1,2834400*	,1292241	,000	-1,494965	-,961555
	Dosis 3	-1,5204800*	,1292241	,000	-1,787185	-1,253775
	Kontrol normal	,2013400	,1292241	,136	,067205	,466205
	Kontrol induksi	-1,6950800*	,1292241	,000	-1,966165	-1,432755

* Perbedaan signifikansi pada level 0,05