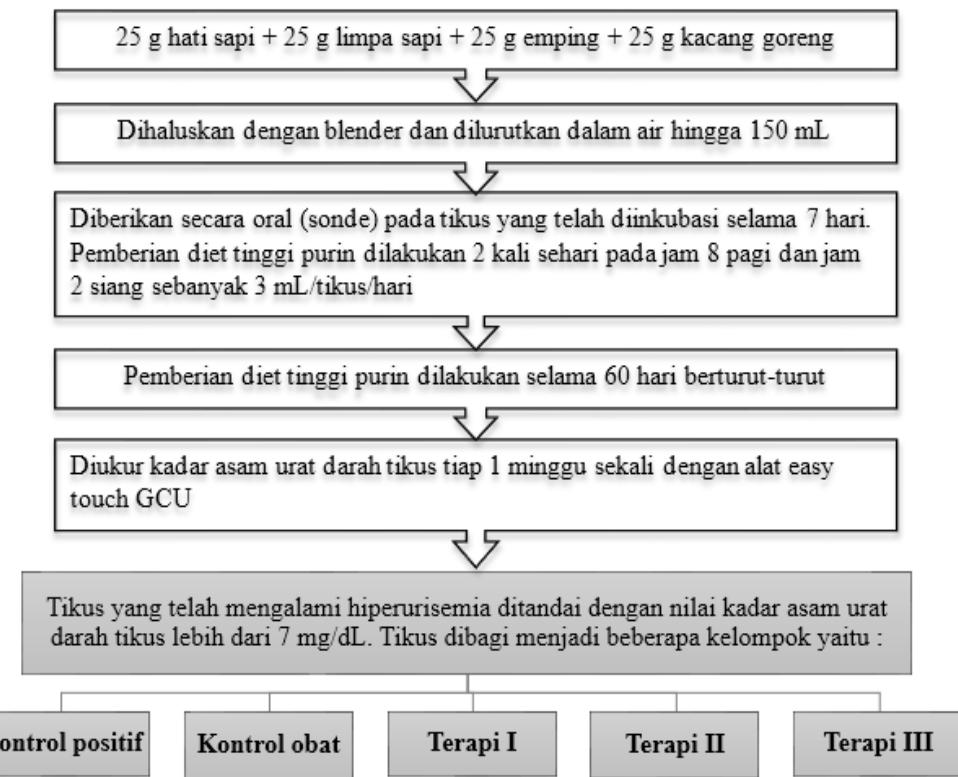


LAMPIRAN

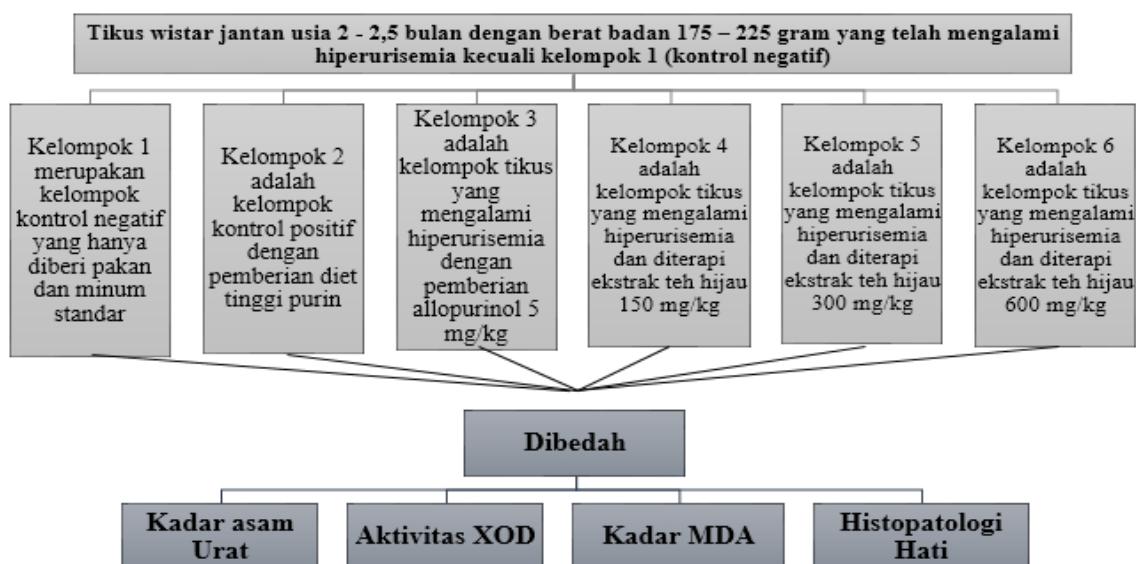
LAMPIRAN 1. DIAGRAM ALIR PENELITIAN

1.1. Kerangka Operasional Penelitian

1.1.1. Pembuatan Hewan Model Hiperurisemia

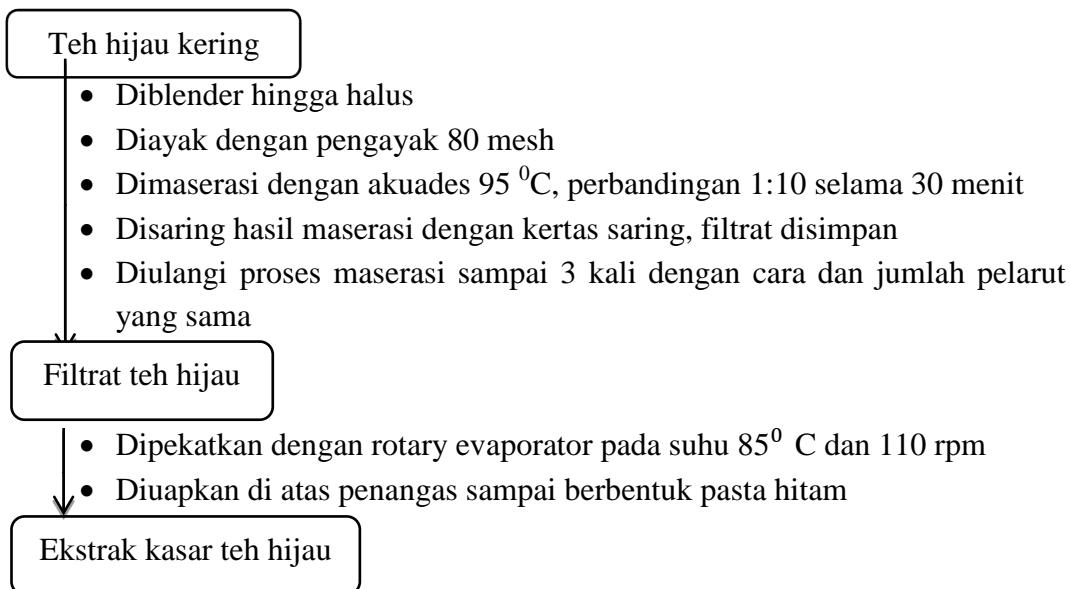


1.1.2. Perlakuan Tikus Hiperurisemia



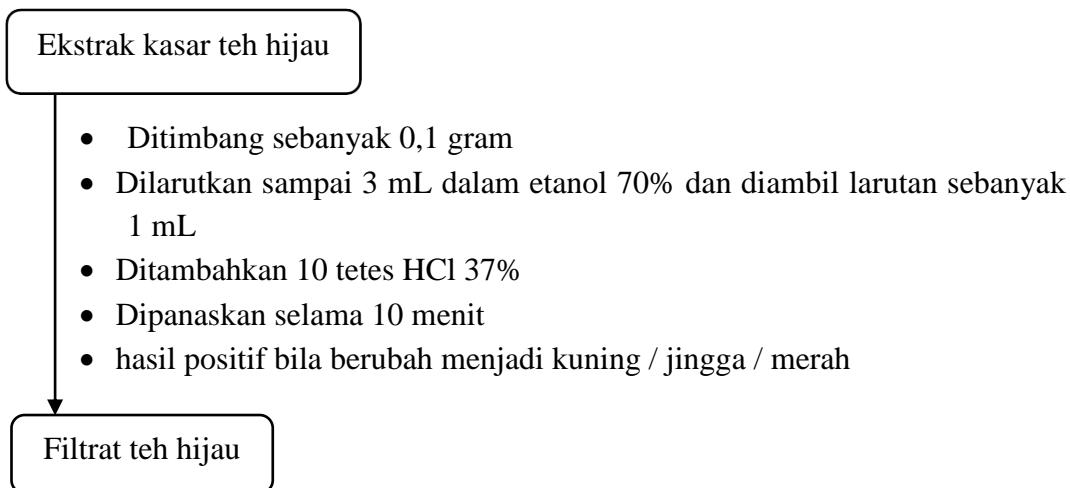
1.2. Diagram Alir Cara Kerja

1.2.1. Preparasi Sampel

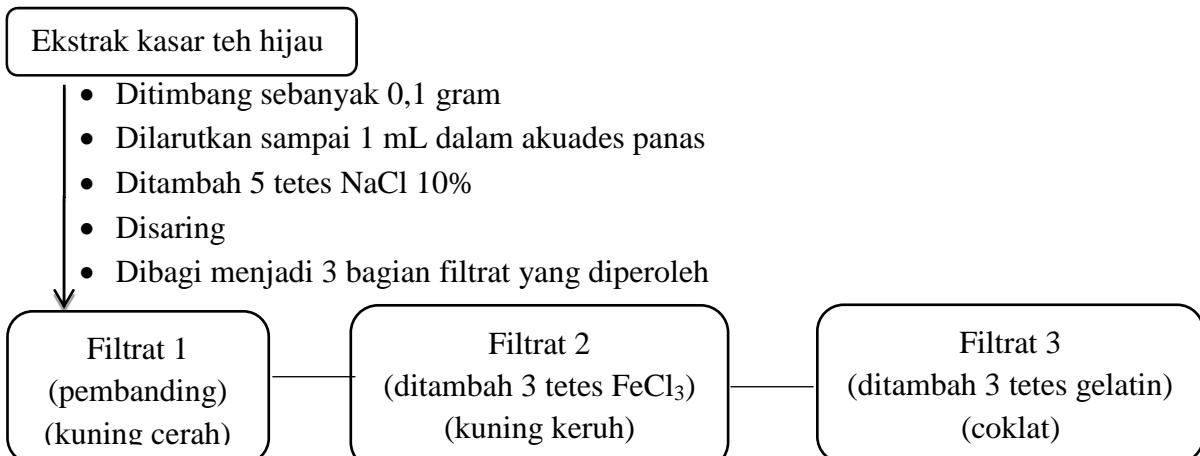


1.2.2. Uji Fitokimia

1.2.2.1. Uji Senyawa Flavonoid



1.2.2.2. Uji Senyawa Polifenol



1.2.3. Uji Kualitatif Flavonoid dengan UHPLC-MS/MS

Ekstrak kasar teh hijau

- Ditimbang sebanyak 0,1 gram
- Dilarutkan dalam metanol 70% sampai 1 mL
- Disaring dengan PTFE (*Polytetrafluoroethylene*) 0,2 micron
- Dimasukan filtrat dalam botol vial 1,5 mL
- Ditunjukkan hasil positif bila berubah menjadi kuning / jingga / merah
- Diinjeksikan filtrat sebanyak 2 μ L pada LC dan suhu kolom dikontrol pada suhu 30⁰ C, sedangkan pada *autosampler compartment* pada suhu 16⁰ C
- Di *running* program *X-Calibur 2.1* pada LC dan program *TSQ Tune* pada MS dengan *mode positive operation*
- Dilihat output dan dilakukan metode SRM (*Selected Reaction Monitoring*) dengan data m/z dari *parent mass* dan *product mass*

Hasil grafik HPLCMS/MS

1.2.4. Pembuatan Diet Tinggi Purin

25 gram hati sapi + 25 gram limpa sapi + 25 gram emping goring + 25 gram kacang tanah

- diblender hingga halus
- dilarutkan dalam air hingga 150 mL
- disaring endapannya

Ekstrak jus tinggi purin

1.2.5. Persiapan Hewan Model Hiperurisemia

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar

- Disiapkan 30 tikus yang berumur 2 – 2,5 bulan dengan berat badan 175-200 gram
- Diadaptasi selama 1 minggu sebelum digunakan sebagai percobaan
- Diberi pakan standar sp dan air secara *ad libitum*
- Ditimbang berat badan tikus setiap seminggu sekali
- Dilakukan *pre examination* setelah adaptasi, yaitu pemeriksaan kadar asam urat awal menggunakan *Easy Touch GCU*

Tikus siap diberi perlakuan

1.2.6. Pembagian Hewan Model Hiperurisemia

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar

- Dibagi menjadi 6 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 5 tikus
 - Kelompok 1 : Kontrol negatif
 - Kelompok 2 : Kontrol positif dengan pemberian diet tinggi purin
 - Kelompok 3 : Pemberian diet tinggi purin + 5 mg/kg BB allopurinol
 - Kelompok 4 : Pemberian diet tinggi purin + ekstrak teh hijau 150 mg/kg BB
 - Kelompok 5 : Pemberian diet tinggi purin + ekstrak teh hijau 300 mg/kg BB
 - Kelompok 6 : Pemberian diet tinggi purin + ekstrak teh hijau 600 mg/kg BB

Tikus siap diberi perlakuan

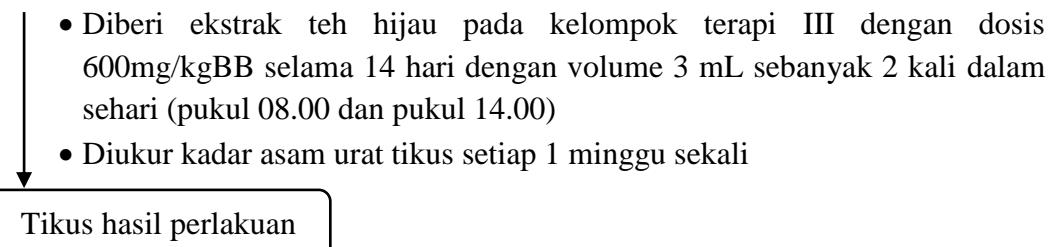
1.2.7. Perlakuan Hewan Model Hiperurisemia

30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar

- Diberi pakan dan minum standar pada tikus kelompok kontrol negatif
- Diberi diet tinggi purin pada tikus kelompok kontrol positif, terapi obat, dan terapi teh hijau selama 60 hari berurut-urut secara intraperitoneal (sonde lambung).
- Dilakukan pemeriksaan kadar asam urat setiap 1 minggu sekali dengan *Easy Touch GCU*
- Diterapi apabila kadar asam urat sudah mencapai $\geq 7,0$ mg/dL, maka tikus sudah bisa diterapi

Tikus siap diterapi

- Diberi allopurinol pada kelompok terapi obat dengan dosis 5 mg/kgBB selama 14 hari dengan volume 3 mL sebanyak 2 kali dalam sehari (pukul 08.00 dan pukul 14.00)
- Diberi ekstrak teh hijau pada kelompok terapi I dengan dosis 150mg/kgBB selama 14 hari dengan volume 3 mL sebanyak 2 kali dalam sehari (pukul 08.00 dan pukul 14.00)
- Diberi ekstrak teh hijau pada kelompok terapi II dengan dosis 300mg/kgBB selama 14 hari dengan volume 3 mL sebanyak 2 kali dalam sehari (pukul 08.00 dan pukul 14.00)



1.2.8. Pembedahan Hewan Model Hiperurisemia

24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar

-
- ```

graph TD
 A["• Diletakkan di atas papan bedah dengan posisi terlentang
• Dilakukan pembedahan menggunakan gunting bedah dengan membelah daerah inguinal membentuk huruf V untuk mengambil organ
• Diambil darah pada bagian jantung ventrikel kanan
• Dimasukkan darah kedalam vacutainer non EDTA
• Diambil hati dan dicuci dengan NaCl-Fis 0,9 %
• Dipotong hati menjadi 2 bagian
• Dimasukkan potongan hati 1 dalam larutan PFA 4 % untuk analisa HE
• Dimasukkan potongan hati 2 dalam PBS-Azida untuk analisa lain"] --> B["Hati dan darah"]

```
- Hati dan darah

### 1.2.9. Pengambilan Serum Darah

Darah

- 
- ```

graph TD
    A["• Dimasukkan ke dalam vacutainer non EDTA  
• Diposisikan 45° selama 1 jam hingga serum dan padatan terpisah  
• Disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 1000 rpm pada suhu 25 °C  
• Diambil serum dan dipindahkan ke dalam microtube"] --> B["Serum darah dalam microtube"]
  
```

Serum darah dalam microtube

-
- ```

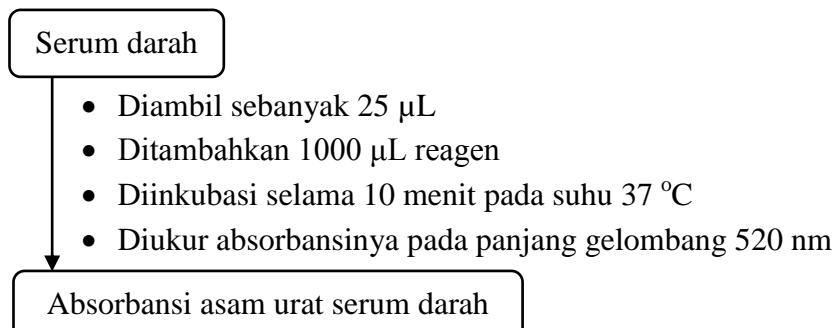
graph TD
 A["• Disentrifugasi sekali lagi dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit pada suhu 25 °C
• Disimpan ke dalam lemari es dengan suhu 2 – 8 °C"] --> B["Serum darah siap dianalisa"]

```

Serum darah siap dianalisa

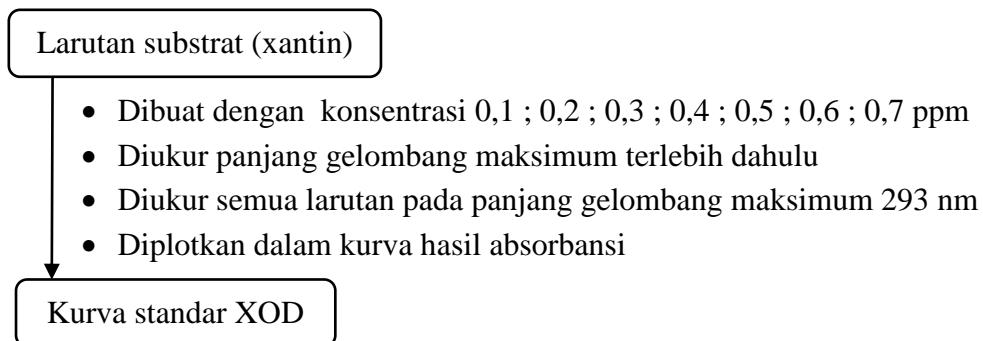
### 1.2.10. Pengukuran Kadar Asam Urat Menggunakan Reagen Kit “*ReiGed Diagnostics*”

#### 1.2.10.1 Kadar Asam Urat pada Serum Darah

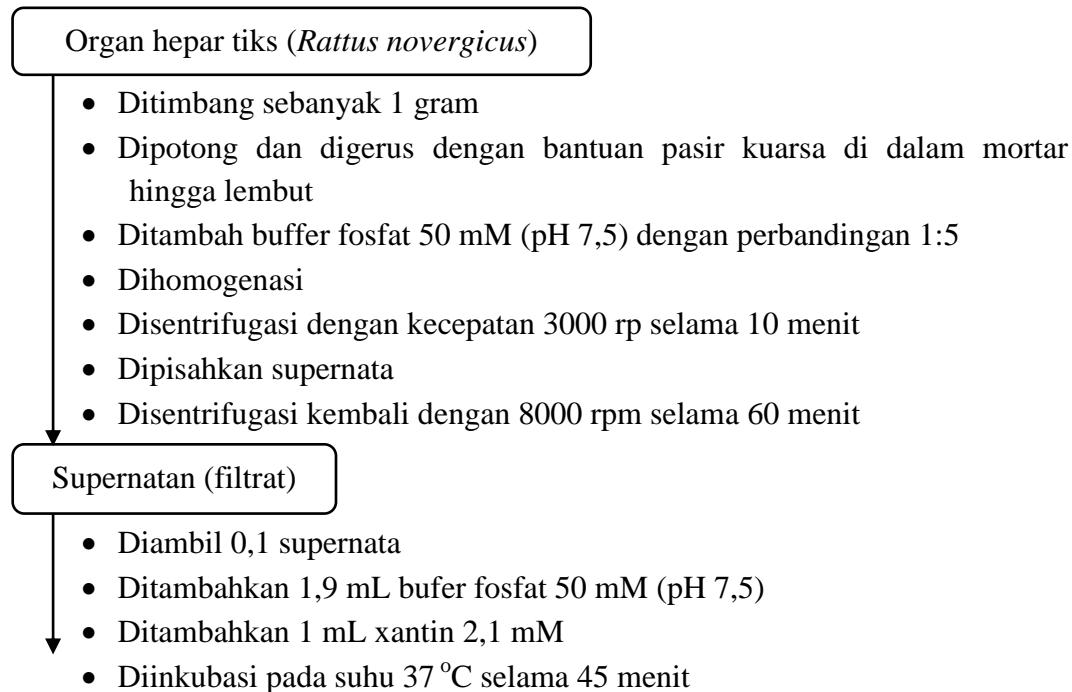


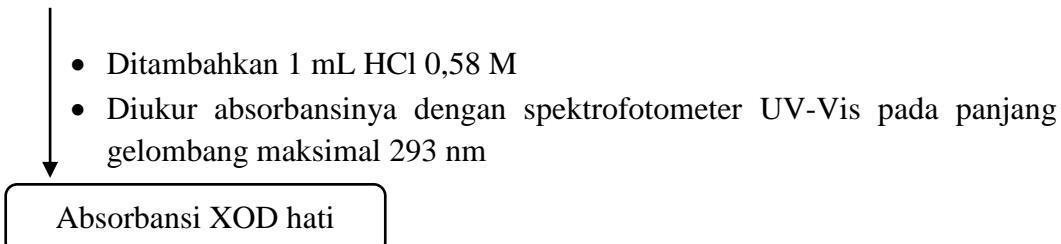
### 1.2.11. Pengukuran Aktivitas Xantin Oksidase (XOD) pada Hati Tikus

#### 1.2.11.1. Pembuatan Kurva Standar Xantin Oksidase



#### 1.2.11.2 Pengukuran Aktivitas Xantin Oksidase pada Hati Tikus

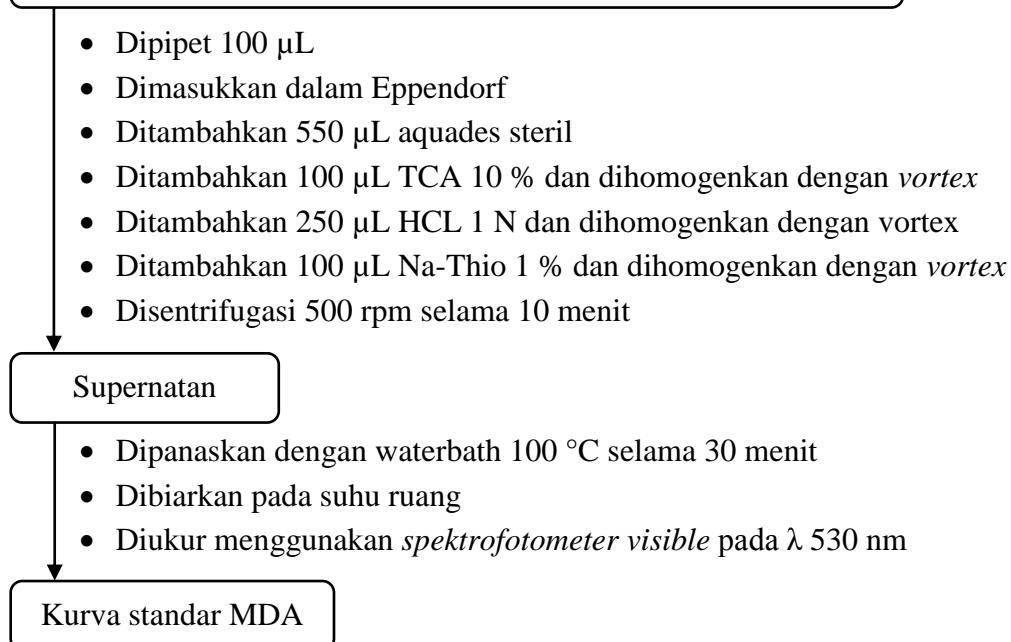




### 1.2.12. Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA) pada Organ Hati

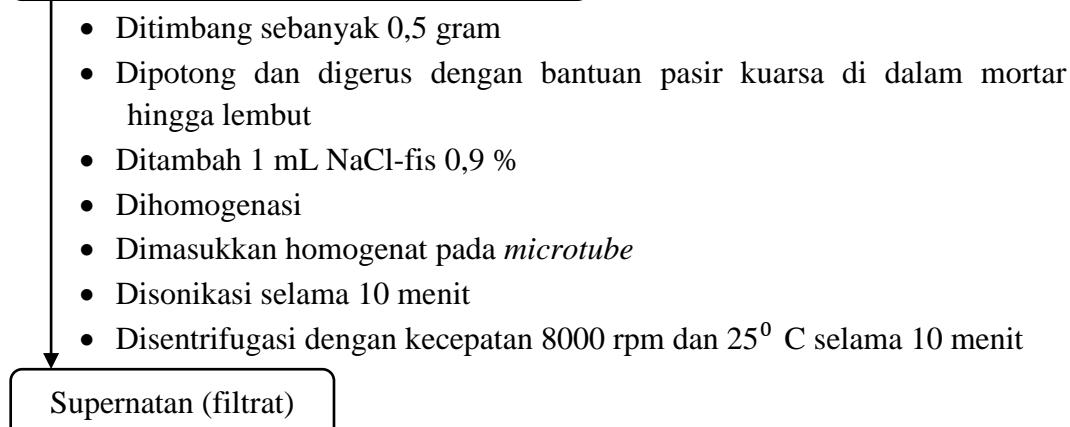
#### 1.2.12.1 Pembuatan Kurva Standar MDA

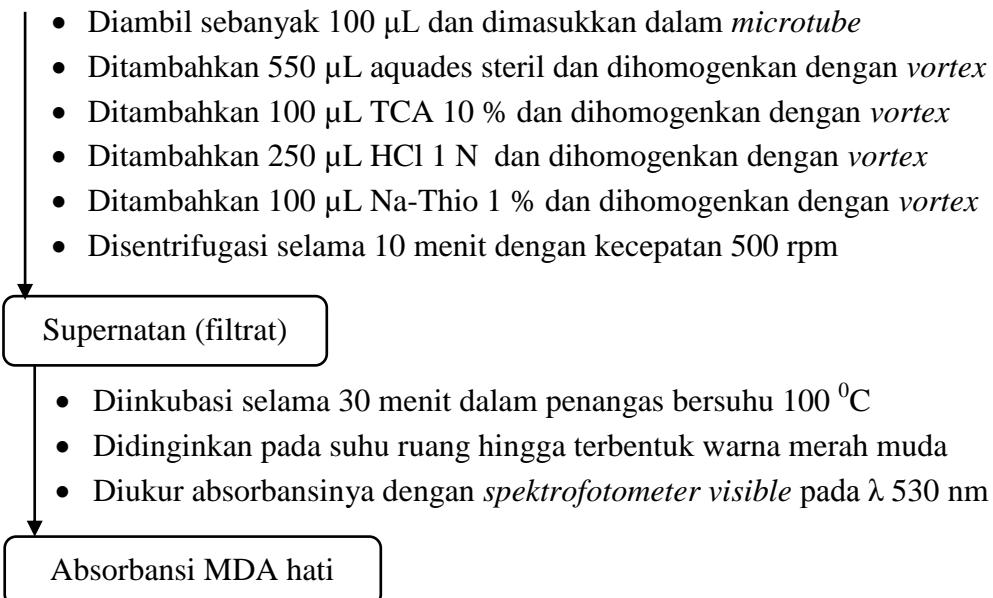
Larutan standar MDA dengan konsentrasi 0,1,2,3,4,5,6,7 dan 8



#### 1.2.12.2. Pengukuran Kadar MDA pada Hati Tikus dengan Uji Thiobarbituric Acid (TBA)

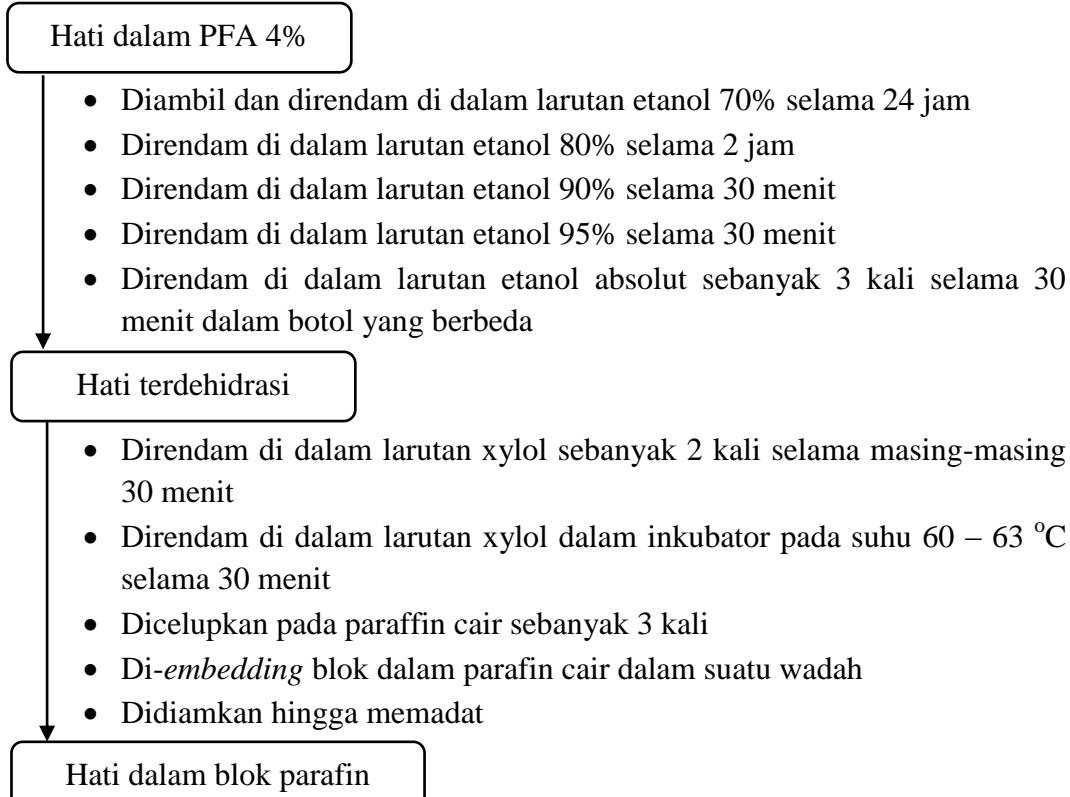
Organ hepar tikus (*Rattus novergicus*)





### 1.2.13. Pemeriksaan Histopatologi Hati dengan Pewarnaan *Hematoxylen-Eosin (HE)*

#### 1.2.13.1. Embedding Organ Hati dengan Metode Bancroft



### 1.2.13.2. Pembuatan Preparat Hati

Hati dalam blok parafin

- Dimasukkan dalam penjepit (*block holder*) mikrotom
- Diatur ketebalan irisan diatas 10  $\mu\text{m}$
- Dipotong melintang seukuran 5  $\mu\text{m}$
- Diambil irisan dengan kuas
- Dimasukkan dalam air hangat suhu 38 – 40 °C
- Diambil irisan menggunakan gelas obyek
- Dikeringkan irisan di atas *hot plate* dengan suhu 38 – 40 °C sampai preparat kering
- Disimpan preparat pada inkubator dengan suhu 38 – 40 °C selama 24 jam

Preparat Hati siap diwarnai

### 1.2.13.3. Pewarnaan *Hematoxylen-Eosin* (HE)

Preparat Hati

- Dideparafinasi ke dalam xylol bertingkat 1-3 selama 5 menit sebanyak 3 kali
- Direhidrasi ke dalam etanol *absolute* selama 5 menit sebanyak 3 kali
- Direhidrasi ke dalam etanol bertingkat konsentrasi 95%, 90%, 80% dan 70% masing-masing selama 5 menit
- Direndam ke dalam aquades selama 5 menit
- Dimasukkan ke dalam pewarna hematoxylen selama 10 menit
- Dicuci dengan air mengalir selama 30 menit
- Dibilas dengan aquades
- Dimasukkan ke dalam pewarna eosin alcohol selama 5 menit
- Direndam dalam aquades 5 menit, dilanjutkan tahap dehidrasi
- Direndam preparat ke dalam etanol bertingkat konsentrasi 80%, 90%, 95% dan etanol *absolute* sebanyak 3 kali
- Dimasukkan preparat pada *xylol* selama 5 menit sebanyak 2 kali
- Dikeringkan dengan cara diangin-anginkan
- Dilakukan mounting dengan *entellan*
- Ditutup preparat dengan *cover glass*

Preparat siap diamati dengan mikroskop

## LAMPIRAN 2. PREPARASI LARUTAN

### 2.1 Pembuatan Diet Tinggi Purin

Ditimbang sebanyak 25 gram hati + 25 gram limpa + 25 gram emping goreng + 25 kacang tanah goring, kemudian diblender sampai halus. dilarutkan dalam air hingga 150 mL dan disaring.

Kandungan purin dari masing-masing bahan:

- 25 gram hati sapi : 554 mg/100 gram
- 25 gram limpa sapi : 444 mg/100 gram
- 25 gram biji melinjo : 222 mg/100 gram
- 25 gram kacang tanah : 190 mg/100 gram

Dosis purin pada ekstrak:

25 gram hati + 25 gram limpa + 25 gram emping goreng + 25 kacang tanah goreng

$$\begin{aligned}
 &= \frac{25}{100} \times 554 \text{ mg} + \frac{25}{100} \times 444 \text{ mg} + \frac{25}{100} \times 222 \text{ mg} + \frac{25}{100} \times 190 \text{ mg} \\
 &= 138,5 \text{ mg} + 111 \text{ mg} + 55,5 \text{ mg} + 47,5 \text{ mg} \\
 &= 352,5 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

Dosis pemberian diet tinggi purin pada tikus per hari:

$$= \frac{352,5 \text{ mg}}{25} = 14,1 \text{ mg/tikus/hari}$$

### 2.2. Pembuatan Larutan Teh Hijau

#### 2.2.1. Dosis 150mg/kgBB

$$Jumlah ekstrak = \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 150 \text{ mg} = 30 \text{ mg/tikus/hari}$$

30 mg ekstrak teh hijau dilarutkan ke dalam akuades panas hingga volume 3 mL.

### **2.2.2. Dosis 300mg/kgBB**

$$\text{Jumlah ekstrak} = \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 300 \text{ mg} = 60 \text{ mg/tikus/hari}$$

60 g ekstrak teh hijau dilarutkan ke dalam akuades panas hingga volume 3 mL.

### **2.2.3. Dosis 600mg/kgBB**

$$\text{Jumlah ekstrak} = \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 600 \text{ mg} = 120 \text{ mg/tikus/hari}$$

120 ekstrak teh hijau dilarutkan ke dalam akuades panas hingga volume 3 mL.

## **2.3. Pembuatan Suspensi Allopurinol**

### **2.3.1. Pembuatan larutan Carboxymethylcelulose (CMC) 0,5%**

0,5 gram padatan serbuk CMC dilarutkan ke dalam akuades sampai volumenya 100 mL. Campuran diaduk menggunakan *magnetik stirrer* dengan kecepatan 600 rpm dan suhu 60°C sampai campuran homogen dan tidak ada gumpalan.

### **2.3.2. Pembuatan larutan Allopurinol 5mg/kgBB**

$$\text{Jumlah ekstrak} = \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 0,25 \text{ mg/tikus/hari}$$

0,25 mg serbuk allopurinol dilarutkan ke dalam larutan CMC hingga volume 3 mL.

## **2.4. Pembuatan Larutan NaCl fisiologis (0,9%)**

9 g NaCl ditimbang dan dilarutkan dengan akuades hingga volume 1000 mL.

## **2.5. Pembuatan Larutan Trichloroaceticacid (TCA) 1%**

2,5 g TCA ditimbang dan dilarutkan dengan 15 mL akuabides dalam gelas kimia. Gelas kimia kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan

kecepatan 600 rpm dan suhu 30<sup>0</sup> C. Larutan yang telah homogen kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas.

## 2.6. Pembuatan larutan HCl 1 M

Persentase HCl pekat : 37%

$\rho$  HCl pekat : 1190 g/L

Mr HCl : 36,45 g/mol

Perhitungan :

$$M = \frac{\rho \times \%}{Mr HCl}$$

$$M = \frac{1190 \text{ g/L} \times 0,37}{36,45 \text{ g/mol}} = 12,09 \frac{\text{mol}}{\text{L}} = 12,09 \text{ M}$$

Pengenceran HCl 12,09 M menjadi 1 M:

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 \times n_1 &= M_1 \times V_1 \times n_1 \\ 12,09 \times V_1 \times 1 &= 1 \times 100 \times 1 \\ V_1 &= \frac{100}{12} = 8,27 \text{ mL} \approx 8,3 \text{ mL} \end{aligned}$$

HCl pekat 37% diambil sebanyak 8,3 mL dan dimasukkan ke dalam gelas kimia dan ditambahkan akuades sebanyak 50 mL dan diaduk. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

## 2.7. Pembuatan Na-Thiobarbituric Acid (Na-Thio) 1%

0,868 g asam tiobarbiturat (TBA) dan 0,241 g NaOH ditimbang dan dilarutkan akuades sebanyak 50 mL dalam gelas ukur. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas, lalu dikocok hingga homogen. Larutan disimpan dalam botol gelap dan ditutup dengan *alumunium foil*.

## 2.8. Pembuatan Larutan *Paraformaldehyde* (PFA) 10 %

$$\begin{aligned}
 M_1 x V_1 &= M_1 x V_1 x n_1 \\
 37\% x V_1 &= 10\% x 100 \\
 V_1 &= \frac{1000\%}{37\%} = 27,027 \text{ mL} \approx 27 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Larutan formaldehyde 37% sebanyak 27 mL dilarutkan ke dalam 50 mL NaCl-fis 0,9% dalam gelas kimia. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan NaCl-fis 0,9% sampai tanda batas. Larutan kemudian dikocok hingga homogen.

## 2.9. Pembuatan Larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS)

0,1g KCl, 0,1g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 4g NaCl, dan 1,08 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O masing-masing ditimbang dan dilarutkan dengan 300 mL akuades. Selanjutnya, larutan diatur pHnya dengan cara menambahkan HCl 0,5 M sampai pH mencapai 7,4. Lalu, larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 500 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas. Larutan kemudian dihomogenkan dengan cara dikocok.

## 2.10. Pembuatan *Phosphate Buffer Saline-Azida* (PBS-Azida)

Larutan PBS yang telah dibuat ditambahkan dengan 3 mL larutan azida 1%, lalu diaduk hingga campuran homogen.

## 2.11. Pembuatan Larutan Etanol Bertingkat

Larutan etanol bertingkat dibuat dari larutan etanol absolut 99% yang kemudian diencerkan menjadi 95%, 90%, 80%, 70% dalam labu takar 100 mL dengan menggunakan akuades steril.

- Pembuatan etanol 95%

$$\begin{aligned}
 M_1 x V_1 &= M_2 x V_2 \\
 99\% x V_1 &= 95\% x 100 \\
 V_1 &= \frac{9500\%}{99\%} = 95,96 \text{ mL} \approx 96 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

96 mL etanol absolut dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

- Pembuatan etanol 90%

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 99\% \times V_1 &= 90\% \times 100 \\ V_1 &= \frac{9000\%}{99\%} = 90,90 \text{ mL} \end{aligned}$$

90,9 mL etanol absolut dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

- Pembuatan etanol 80%

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 99\% \times V_1 &= 80\% \times 100 \\ V_1 &= \frac{8000\%}{99\%} = 80,80 \text{ mL} \end{aligned}$$

80,8 mL etanol absolut dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

- Pembuatan etanol 70%

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 99\% \times V_1 &= 70\% \times 100 \\ V_1 &= \frac{7000\%}{99\%} = 70,70 \text{ mL} \end{aligned}$$

70,7 mL etanol absolut dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

## 2.12. Pembuatan Larutan Standar MDA

Larutan standar MDA dibuat dengan mengencerkan larutan stok MDA ( $\rho = 977 \mu\text{g/mL}$ ) dengan akuades menjadi konsentrasi 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, dan 1  $\mu\text{g/mL}$ .

- Pembuatan 10 mL larutan standar MDA konsentrasi 8  $\mu\text{g/mL}$

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 977 \mu\text{g/mL} \times V_1 &= 8 \mu\text{g/mL} \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{80 \mu\text{g/mL}}{977 \mu\text{g/mL}} \text{ mL} = 0,0819 \text{ mL} \\ &\approx 0,08 \text{ mL} \end{aligned}$$

0,08 mL larutan stok MDA dimasukan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambah dengan akuades hingga tanda batas lalu dikocok hingga homogen.

- Pembuatan 10 mL larutan standar MDA konsentrasi 7  $\mu\text{g/mL}$

$$\begin{aligned}
 M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\
 977 \mu\text{g/mL} \times V_1 &= 7 \mu\text{g/mL} \times 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{70 \mu\text{g/mL}}{977 \mu\text{g/mL}} \text{ mL} = 0,0716 \text{ mL} \\
 &\approx 0,07 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

0,08 mL larutan stok MDA dimasukan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambah dengan akuades hingga tanda batas lalu dikocok hingga homogen.

- Pembuatan 10 mL larutan standar MDA konsentrasi 6  $\mu\text{g/mL}$

$$\begin{aligned}
 M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\
 977 \mu\text{g/mL} \times V_1 &= 6 \mu\text{g/mL} \times 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{60 \mu\text{g/mL}}{977 \mu\text{g/mL}} \text{ mL} = 0,0614 \text{ mL} \\
 &\approx 0,06 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

0,06 mL larutan stok MDA dimasukan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambah dengan akuades hingga tanda batas lalu dikocok hingga homogen.

Larutan standar MDA dengan konsentrasi 5, 4, 3, 2 dan 1  $\mu\text{g/mL}$  dilakukan dengan prosedur yang sama, yaitu metode pengenceran bertingkat.

### LAMPIRAN 3. PERHITUNGAN PARAMETER

#### 3.1. Uji Kadar Asam Urat Total pada Serum

##### 3.1.1. Perhitungan Kadar Asam Urat Total pada Serum Darah

Kadar asam urat total dapat diketahui dengan menggunakan standar yang sudah diketahui nilainya yang terdapat pada reagen kit yaitu 6 mg/dL. Nilai absorbansi larutan standar diukur, dan diperoleh absorbansi sebesar 0,019. Sehingga kadar asam urat total dapat diketahui dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Kadar asam urat serum} = \frac{\text{Absorbansi}_{\text{sampel}}}{\text{Absorbansi}_{\text{standar}}} \times \text{Konsentrasi standar (6 mg/dL)}$$

##### 3.1.1.1. Kadar Asam Urat Serum Kontrol Negatif

$$1. \text{Kadar} = \frac{0,008}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 2,526 \text{ mg/dL} \quad 3. \text{Kadar} = \frac{0,016}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 5,053 \text{ mg/dL}$$

$$2. \text{Kadar} = \frac{0,011}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 3,474 \text{ mg/dL} \quad 4. \text{Kadar} = \frac{0,015}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 4,737 \text{ mg/dL}$$

##### 3.1.1.2. Kadar Asam Urat Serum Kontrol Positif

$$1. \text{Kadar} = \frac{0,042}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 13,263 \text{ mg/dL} \quad 3. \text{Kadar} = \frac{0,056}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 17,684 \text{ mg/dL}$$

$$2. \text{Kadar} = \frac{0,032}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 10,105 \text{ mg/dL} \quad 4. \text{Kadar} = \frac{0,051}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 16,105 \text{ mg/dL}$$

##### 3.1.1.3. Kadar Asam Urat Serum Terapi Obat

$$1. \text{Kadar} = \frac{0,021}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 6,631 \text{ mg/dL} \quad 3. \text{Kadar} = \frac{0,017}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 5,368 \text{ mg/dL}$$

$$2. \text{Kadar} = \frac{0,012}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 3,789 \text{ mg/dL} \quad 4. \text{Kadar} = \frac{0,019}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 6,000 \text{ mg/dL}$$

##### 3.1.1.4. Kadar Asam Urat Serum Terapi I

$$1. \text{Kadar} = \frac{0,029}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 9,158 \text{ mg/dL} \quad 3. \text{Kadar} = \frac{0,027}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 8,526 \text{ mg/dL}$$

$$4. \text{Kadar} = \frac{0,025}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 7,895 \text{ mg/dL}$$

$$2. Kadar = \frac{0,027}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 8,526 \text{ mg/dL}$$

### 3.1.1.5. Kadar Asam Urat Serum Terapi II

$$1. Kadar = \frac{0,024}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 7,579 \text{ mg/dL} \quad 3. Kadar = \frac{0,020}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 6,316 \text{ mg/dL}$$

$$2. Kadar = \frac{0,020}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 6,316 \text{ mg/dL} \quad 4. Kadar = \frac{0,020}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 6,316 \text{ mg/dL}$$

### 3.1.1.6. Kadar Asam Urat Total Terapi III

$$1. Kadar = \frac{0,021}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 6,631 \text{ mg/dL} \quad 3. Kadar = \frac{0,022}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 6,947 \text{ mg/dL}$$

$$2. Kadar = \frac{0,018}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 5,684 \text{ mg/dL} \quad 4. Kadar = \frac{0,020}{0,019} \times 6 \text{ mg/dL} = 6,316 \text{ mg/dL}$$

### 3.1.2. Persentase Kenaikan Kadar Asam Urat Total

Persentase kenaikan kadar asam urat diberi diet tinggi purin berdasarkan rata-rata kadar asam urat pada kontrol positif dibandingkan dengan kontrol negatif ditentukan perhitungannya sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \% \text{ kenaikan kadar asam urat total} &= \frac{\text{Rerata positif} - \text{rerata negatif}}{\text{Rerata negatif}} \times 100\% \\ &= \frac{14,289 - 3,947}{3,947} \times 100\% \\ &= 262,022 \% \end{aligned}$$

### 3.1.3. Presentasi Penurunan Kadar Asam Urat Total

Presentasi penurunan kadar asam urat tikus dengan diet tinggi purin yang diterapi ekstrak teh hijau sebagai berikut :

1. Allopurinol dosis 5 mg/kg BB:

$$\begin{aligned} \% \text{ penurunan kadar asam urat total} &= \frac{\text{Rerata sakit} - \text{Rerata terapi obat}}{\text{Rerata sakit}} \times 100\% \\ &= \frac{14,289 - 5,447}{14,289} \times 100\% \\ &= 61,88 \% \end{aligned}$$

2. Ekstrak teh hijau dosis 150 mg/kg BB:

$$\begin{aligned}\% \text{ penurunan kadar asam urat total} &= \frac{\text{Rerata sakit} - \text{Rerata terapi I}}{\text{Rerata sakit}} \times 100\% \\ &= \frac{14,289 - 8,52}{14,289} \times 100\% \\ &= 40,37 \%\end{aligned}$$

3. Ekstrak teh hijau dosis 300 mg/kg BB:

$$\begin{aligned}\% \text{ penurunan kadar asam urat total} &= \frac{\text{Rerata sakit} - \text{Rerata terapi II}}{\text{Rerata sakit}} \times 100\% \\ &= \frac{14,289 - 6,631}{14,289} \times 100\% \\ &= 53,594 \%\end{aligned}$$

4. Ekstrak teh hijau dosis 600 mg/kg BB:

$$\begin{aligned}\% \text{ penurunan kadar asam urat total} &= \frac{\text{Rerata sakit} - \text{Rerata terapi III}}{\text{Rerata sakit}} \times 100\% \\ &= \frac{14,289 - 6,395}{14,289} \times 100\% \\ &= 55,245 \%\end{aligned}$$

### 3.1.4. Tabel Kadar Asam Urat Total Serum Darah

| <b>Kelompok Perlakuan</b>    | <b>Absorbansi</b> | <b>Rata-rata Absorbansi</b> | <b>Kadar Asam Urat Total (mg/dL)</b> | <b>Rata-rata Kadar Asam Urat Total (mg/dL)</b> |
|------------------------------|-------------------|-----------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------|
| Kontrol negatif              | 0,008             | 0,019                       | 2,526                                |                                                |
|                              | 0,011             |                             | 3,474                                | 3,947 ± 1,0110                                 |
|                              | 0,016             |                             | 5,053                                |                                                |
|                              | 0,015             |                             | 4,737                                |                                                |
| Kontrol positif              | 0,042             | 0,045                       | 13,263                               |                                                |
|                              | 0,032             |                             | 10,105                               | 14,289 ± 2,8889                                |
|                              | 0,056             |                             | 17,684                               |                                                |
|                              | 0,051             |                             | 16,105                               |                                                |
| Dosis obat 5 mg/kg BB        | 0,021             | 0,017                       | 6,631                                |                                                |
|                              | 0,012             |                             | 3,789                                | 5,447 ± 1,0562                                 |
|                              | 0,017             |                             | 5,368                                |                                                |
|                              | 0,019             |                             | 6                                    |                                                |
| Dosist terapi 1 150 mg/kg BB | 0,029             | 0,027                       | 9,158                                |                                                |
|                              | 0,027             |                             | 8,526                                | 5,447 ± 1,0562                                 |
|                              | 0,027             |                             | 8,526                                |                                                |
|                              | 0,025             |                             | 7,895                                |                                                |
| Dosist terapi 2 300 mg/kg BB | 0,024             | 0,021                       | 7,579                                |                                                |
|                              | 0,02              |                             | 6,316                                | 6,631 ± 0,547                                  |
|                              | 0,02              |                             | 6,316                                |                                                |
|                              | 0,02              |                             | 6,316                                |                                                |
| Dosis terapi 3 600 mg/kg BB  | 0,021             | 0,020                       | 6,632                                |                                                |
|                              | 0,018             |                             | 5,684                                | 6,395 ± 0,4671                                 |
|                              | 0,022             |                             | 6,947                                |                                                |
|                              | 0,02              |                             | 6,316                                |                                                |

### 3.1.5. Uji Statistik Asam Urat Total pada Serum Darah

#### 3.1.5.1. Uji Kenormalan

Tests of Normality

|           | KelompokTi<br>kus | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|-----------|-------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|           |                   | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| KadarAsam | negatif           | .252                            | 4  | .    | .925         | 4  | .567 |
| Urat      | positif           | .207                            | 4  | .    | .967         | 4  | .823 |
|           | obat              | .225                            | 4  | .    | .949         | 4  | .710 |
|           | terapi1           | .252                            | 4  | .    | .945         | 4  | .683 |
|           | terapi2           | .302                            | 4  | .    | .828         | 4  | .163 |
|           | terapi3           | .190                            | 4  | .    | .973         | 4  | .858 |

a. Lilliefors Significance Correction

#### 3.1.5.2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Asam Urat Serum

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 5.846            | 5   | 18  | .200 |

#### 3.1.5.3. Uji ANOVA

ANOVA

KadarAsamUrat

|                | Sum of Squares | Df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 262.102        | 5  | 52.420      | 21.013 | .000 |
| Within Groups  | 44.905         | 18 | 2.495       |        |      |
| Total          | 307.007        | 23 |             |        |      |

### 3.1.5.4. Uji Tukey

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar Asam Urat Serum

Tukey HSD

| (I)<br>Kelompok<br>Tikus | (J)<br>Kelompok<br>Tikus | Mean Difference<br>(I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval |             |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
|                          |                          |                          |            |      | Lower Bound             | Upper Bound |
| negatif                  | positif                  | -10.33843*               | 1.11685    | .000 | -13.8878                | -6.7890     |
|                          | obat                     | -1.50093                 | 1.11685    | .758 | -5.0503                 | 2.0485      |
|                          | terapi1                  | -4.58093*                | 1.11685    | .007 | -8.1303                 | -1.0315     |
|                          | terapi2                  | -2.91842                 | 1.11685    | .145 | -6.4678                 | .6310       |
|                          | terapi3                  | -2.44592                 | 1.11685    | .289 | -5.9953                 | 1.1035      |
| positif                  | negatif                  | 10.33843*                | 1.11685    | .000 | 6.7890                  | 13.8878     |
|                          | obat                     | 8.83750*                 | 1.11685    | .000 | 5.2881                  | 12.3869     |
|                          | terapi1                  | 5.75750*                 | 1.11685    | .001 | 2.2081                  | 9.3069      |
|                          | terapi2                  | 7.42000*                 | 1.11685    | .000 | 3.8706                  | 10.9694     |
|                          | terapi3                  | 7.89250*                 | 1.11685    | .000 | 4.3431                  | 11.4419     |
| obat                     | negatif                  | 1.50093                  | 1.11685    | .758 | -2.0485                 | 5.0503      |
|                          | positif                  | -8.83750*                | 1.11685    | .000 | -12.3869                | -5.2881     |
|                          | terapi1                  | -3.08000                 | 1.11685    | .111 | -6.6294                 | .4694       |
|                          | terapi2                  | -1.41750                 | 1.11685    | .797 | -4.9669                 | 2.1319      |
|                          | terapi3                  | -.94500                  | 1.11685    | .954 | -4.4944                 | 2.6044      |
| terapi1                  | negatif                  | 4.58093*                 | 1.11685    | .007 | 1.0315                  | 8.1303      |
|                          | positif                  | -5.75750*                | 1.11685    | .001 | -9.3069                 | -2.2081     |
|                          | obat                     | 3.08000                  | 1.11685    | .111 | -.4694                  | 6.6294      |
|                          | terapi2                  | 1.66250                  | 1.11685    | .675 | -1.8869                 | 5.2119      |
|                          | terapi3                  | 2.13500                  | 1.11685    | .427 | -1.4144                 | 5.6844      |
| terapi2                  | negatif                  | 2.91842                  | 1.11685    | .145 | -.6310                  | 6.4678      |
|                          | positif                  | -7.42000*                | 1.11685    | .000 | -10.9694                | -3.8706     |
|                          | obat                     | 1.41750                  | 1.11685    | .797 | -2.1319                 | 4.9669      |
|                          | terapi1                  | -1.66250                 | 1.11685    | .675 | -5.2119                 | 1.8869      |
|                          | terapi3                  | .47250                   | 1.11685    | .998 | -3.0769                 | 4.0219      |
| terapi3                  | negatif                  | 2.44592                  | 1.11685    | .289 | -1.1035                 | 5.9953      |
|                          | positif                  | -7.89250*                | 1.11685    | .000 | -11.4419                | -4.3431     |
|                          | obat                     | .94500                   | 1.11685    | .954 | -2.6044                 | 4.4944      |

|         |          |         |      |         |        |
|---------|----------|---------|------|---------|--------|
| terapi1 | -2.13500 | 1.11685 | .427 | -5.6844 | 1.4144 |
| terapi2 | -.47250  | 1.11685 | .998 | -4.0219 | 3.0769 |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### 3.1.5.5. Uji Tukey (Ulangan)

Kadar Asam Urat Serum

Tukey HSD<sup>a</sup>

| KelompokTikus | N | Subset for alpha = 0.05 |        |         |
|---------------|---|-------------------------|--------|---------|
|               |   | 1                       | 2      | 3       |
| negatif       | 4 | 3.9466                  |        |         |
| obat          | 4 | 5.4475                  | 5.4475 |         |
| terapi3       | 4 | 6.3925                  | 6.3925 |         |
| terapi2       | 4 | 6.8650                  | 6.8650 |         |
| terapi1       | 4 |                         | 8.5275 |         |
| positif       | 4 |                         |        | 14.2850 |
| Sig.          |   | .145                    | .111   | 1.000   |

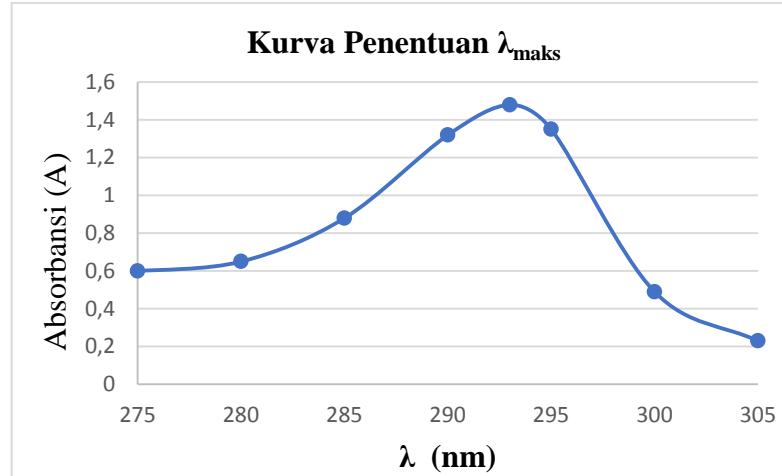
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

## 3.2. Pengukuran Aktivitas Xantin Oksidase (XOD)

### 3.2.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

**Tabel 3.2.1.** Absorbansi Larutan Standar XOD pada  $\lambda$  293 nm.

| Panjang Gelombang (nm) | Absorbansi |
|------------------------|------------|
| 275                    | 0,6        |
| 280                    | 0,65       |
| 285                    | 0,88       |
| 290                    | 1,32       |
| 293                    | 1,48       |
| 295                    | 1,35       |
| 300                    | 0,49       |
| 305                    | 0,23       |

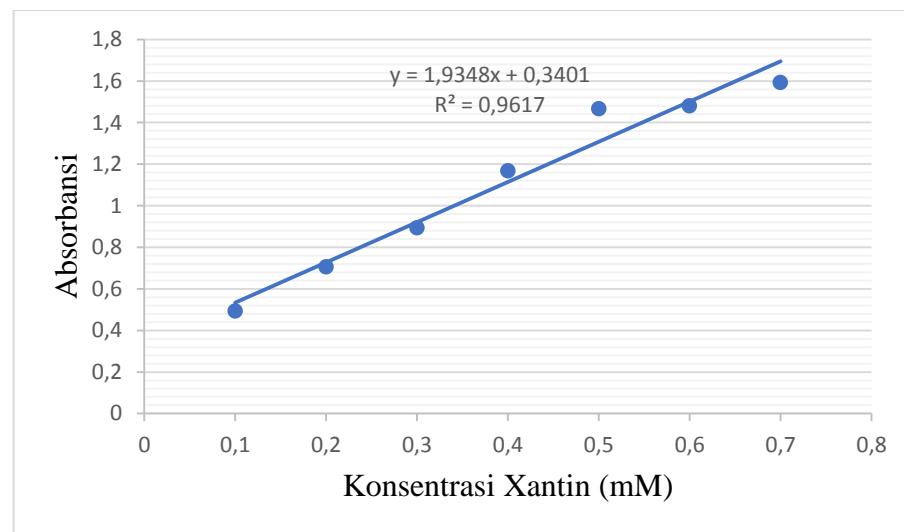


**Gambar 3.2.1.** Kurva Penentuan Panjang Gelombang Maksimum XOD

### 3.2.2. Pembuatan Kurva Baku XOD

**Tabel 3.2.2.** Data Pengukuran Larutan Standar XOD pada  $\lambda$  293 nm

| Konsentrasi (mM) | Absorbansi |
|------------------|------------|
| 0,1              | 0,493      |
| 0,2              | 0,706      |
| 0,3              | 0,8935     |
| 0,4              | 1,1675     |
| 0,5              | 1,466      |
| 0,6              | 1,48       |
| 0,7              | 1,592      |



**Gambar 3.2.2.** Kurva Baku XOD

### 3.2.3. Perhitungan Xanti Sisa

Xantin sisa dapat diketahui dengan menggunakan persamaan kurva standar XOD  $y = 1,9348x + 0,3401$ . Xanti sisa sebagai nilai x. Misalnya salah satu kelompok kontrol negatif memiliki nilai absorbansi 0,641. Maka dapat dihitung xantin sisa dengan persamaan kurva standar XOD :

$$y = \text{Absorbansi}$$

x = Konsentrasi xantin setelah reaksi (konsentrasi sisa)

$$y = 1,9348 x + 0,3401$$

$$0,641 - 0,3401 = 1,9348 x$$

$$0,3009 = 1,9348 x$$

$$x = \underline{\underline{0,3009}}$$

$$1,9348$$

$$= 0,156 \text{ mM}$$

### 3.2.4. Perhitungan Xantin Bereaksi

Xantin bereaksi dapat diketahui dengan cara xantin total dikurangi dengan xantin sisa, yang mana nilai xantin total yaitu 0,7 mM. Misal salah satu kelompok kontrol negatif memiliki nilai xantin sisa 0,156 mM. Maka dapat dihitung xantin bereaksi Xantin bereaksi = Xantin total – Xantin sisa

$$= 0,7 - 0,156$$

$$= 0,544 \text{ mM}$$

### 3.2.5. Perhitungan Aktivitas Xantin Oksidase (XOD)

Aktivitas xantin oksidase dapat dihitung misal salah satu kelompok kontrol negatif memiliki nilai xantin bereaksi 0,544 mM, maka perhitungannya yaitu Aktivitas xantinoksidase = Xantin bereaksi (mM) x Faktor pengenceran x 100 %

$$\text{Vol enzim (L)} \times \text{Waktu inkubasi (menit)}$$

$$= \underline{\underline{0,544 \text{ mM} \times 5}} \times 100 \%$$

$$1,10^{-4} \text{ L} \times 45 \text{ menit}$$

$$= \underline{\underline{2,72 \text{ mM}}} \times 100 \%$$

$$0,0045 \text{ L menit}$$

$$= 604,849 \text{ mM/L menit}$$

### 3.2.6. Tabel Data Aktivitas XOD

| Kelompok Perlakuan              | Absorbansi | Xantin sisa (mM) | Xantin Bereaksi (mM) | Aktivitas XOD (mM/L menit) | Rata XOD |
|---------------------------------|------------|------------------|----------------------|----------------------------|----------|
| Kontrol negatif                 | 0,641      | 0,156            | 0,544                | 604,849                    |          |
|                                 | 0,594      | 0,131            | 0,569                | 631,851                    | 617,057  |
|                                 | 0,611      | 0,140            | 0,559                | 622,084                    | ± 10,619 |
|                                 | 0,633      | 0,151            | 0,548                | 609,445                    |          |
| Kontrol positif                 | 0,551      | 0,109            | 0,591                | 656,555                    |          |
|                                 | 0,553      | 0,110            | 0,589                | 655,406                    | 678,818  |
|                                 | 0,536      | 0,101            | 0,599                | 665,173                    | ± 34,455 |
|                                 | 0,409      | 0,036            | 0,664                | 378,136                    |          |
| Dosis obat 5 mg/kg BB           | 1,051      | 0,368            | 0,332                | 369,298                    |          |
|                                 | 1,459      | 0,578            | 0,121                | 134,896                    | 288,147  |
|                                 | 1,234      | 0,462            | 0,238                | 264,161                    | ± 99,849 |
|                                 | 1,025      | 0,354            | 0,346                | 384,235                    |          |
| Dosist terapi 1<br>150 mg/kg BB | 0,767      | 0,221            | 0,479                | 532,460                    |          |
|                                 | 0,639      | 0,155            | 0,545                | 605,998                    | 585,889  |
|                                 | 0,66       | 0,165            | 0,534                | 593,933                    | ± 31,475 |
|                                 | 0,63       | 0,149            | 0,550                | 611,168                    |          |
| Dosist terapi 2<br>300 mg/kg BB | 0,803      | 0,239            | 0,460                | 511,777                    |          |
|                                 | 0,839      | 0,258            | 0,442                | 491,095                    | 503,878  |
|                                 | 0,842      | 0,259            | 0,440                | 489,371                    | ± 14,249 |
|                                 | 0,783      | 0,229            | 0,471                | 523,268                    |          |
| Dosis terapi 3<br>600 mg/kg BB  | 0,94       | 0,310            | 0,389                | 433,069                    |          |
|                                 | 0,821      | 0,249            | 0,451                | 501,436                    | 438,814  |
|                                 | 0,911      | 0,295            | 0,405                | 449,729                    | ± 46,555 |
|                                 | 1,048      | 0,366            | 0,334                | 371,021                    |          |

### 3.2.7. Uji Statistika Aktivitas Xantin Oksidase (XOD) pada Hati

#### 3.2.7.1. Uji Kenormalan

Tests of Normality

|                    | Kelompok<br>Tikus | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|--------------------|-------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|                    |                   | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| Aktivitas XOD Hati | negatif           | .233                            | 4  | .    | .946         | 4  | .692 |
|                    | positif           | .384                            | 4  | .    | .716         | 4  | .017 |
|                    | obat              | .259                            | 4  | .    | .894         | 4  | .403 |
|                    | terapi1           | .338                            | 4  | .    | .794         | 4  | .092 |
|                    | terapi2           | .281                            | 4  | .    | .880         | 4  | .339 |
|                    | terapi3           | .207                            | 4  | .    | .985         | 4  | .930 |

a. Lilliefors Significance Correction

#### 3.2.7.2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Aktivitas XOD Hati

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 4.117            | 5   | 18  | .011 |

#### 3.2.7.3. Uji ANOVA

ANOVA

Aktivitas XOD Hati

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 398328.330     | 5  | 79665.666   | 24.503 | .000 |
| Within Groups  | 58523.581      | 18 | 3251.310    |        |      |
| Total          | 456851.910     | 23 |             |        |      |

### 3.2.7.4. Uji Tukey

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Aktivitas XOD Hati

Tukey HSD

| (I)<br>KelompokTikus | (J)<br>KelompokTi<br>kus | Mean<br>Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval |             |
|----------------------|--------------------------|--------------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
|                      |                          |                          |            |      | Lower<br>Bound          | Upper Bound |
| negatif              | positif                  | -61.76050                | 40.31941   | .650 | -189.8970               | 66.3760     |
|                      | obat                     | 328.90950*               | 40.31941   | .000 | 200.7730                | 457.0460    |
|                      | terapi1                  | 31.16750                 | 40.31941   | .969 | -96.9690                | 159.3040    |
|                      | terapi2                  | 113.17925                | 40.31941   | .102 | -14.9573                | 241.3158    |
|                      | terapi3                  | 178.24325*               | 40.31941   | .004 | 50.1067                 | 306.3798    |
| positif              | negatif                  | 61.76050                 | 40.31941   | .650 | -66.3760                | 189.8970    |
|                      | obat                     | 390.67000*               | 40.31941   | .000 | 262.5335                | 518.8065    |
|                      | terapi1                  | 92.92800                 | 40.31941   | .242 | -35.2085                | 221.0645    |
|                      | terapi2                  | 174.93975*               | 40.31941   | .005 | 46.8032                 | 303.0763    |
|                      | terapi3                  | 240.00375*               | 40.31941   | .000 | 111.8672                | 368.1403    |
| obat                 | negatif                  | -328.90950*              | 40.31941   | .000 | -457.0460               | -200.7730   |
|                      | positif                  | -390.67000*              | 40.31941   | .000 | -518.8065               | -262.5335   |
|                      | terapi1                  | -297.74200*              | 40.31941   | .000 | -425.8785               | -169.6055   |
|                      | terapi2                  | -215.73025*              | 40.31941   | .001 | -343.8668               | -87.5937    |
|                      | terapi3                  | -150.66625*              | 40.31941   | .016 | -278.8028               | -22.5297    |
| terapi1              | negatif                  | -31.16750                | 40.31941   | .969 | -159.3040               | 96.9690     |
|                      | positif                  | -92.92800                | 40.31941   | .242 | -221.0645               | 35.2085     |
|                      | obat                     | 297.74200*               | 40.31941   | .000 | 169.6055                | 425.8785    |
|                      | terapi2                  | 82.01175                 | 40.31941   | .362 | -46.1248                | 210.1483    |
|                      | terapi3                  | 147.07575*               | 40.31941   | .019 | 18.9392                 | 275.2123    |
| terapi2              | negatif                  | -113.17925               | 40.31941   | .102 | -241.3158               | 14.9573     |
|                      | positif                  | -174.93975*              | 40.31941   | .005 | -303.0763               | -46.8032    |
|                      | obat                     | 215.73025*               | 40.31941   | .001 | 87.5937                 | 343.8668    |
|                      | terapi1                  | -82.01175                | 40.31941   | .362 | -210.1483               | 46.1248     |
|                      | terapi3                  | 65.06400                 | 40.31941   | .601 | -63.0725                | 193.2005    |
| terapi3              | negatif                  | -178.24325*              | 40.31941   | .004 | -306.3798               | -50.1067    |
|                      | positif                  | -240.00375*              | 40.31941   | .000 | -368.1403               | -111.8672   |
|                      | obat                     | 150.66625*               | 40.31941   | .016 | 22.5297                 | 278.8028    |
|                      | terapi1                  | -147.07575*              | 40.31941   | .019 | -275.2123               | -18.9392    |
|                      | terapi2                  | -65.06400                | 40.31941   | .601 | -193.2005               | 63.0725     |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### 3.2.7.5. Uji Ulangan (Uji Tukey)

**Aktivitas XOD Hati**

Tukey HSD<sup>a</sup>

| KelompokTikus | N | Subset for alpha = 0.05 |          |          |          |
|---------------|---|-------------------------|----------|----------|----------|
|               |   | 1                       | 2        | 3        | 4        |
| obat          | 4 | 288.1475                |          |          |          |
| terapi3       | 4 |                         | 438.8137 |          |          |
| terapi2       | 4 |                         | 503.8778 | 503.8778 |          |
| terapi1       | 4 |                         |          | 585.8895 | 585.8895 |
| negatif       | 4 |                         |          | 617.0570 | 617.0570 |
| positif       | 4 |                         |          |          | 678.8175 |
| Sig.          |   | 1.000                   | .601     | .102     | .242     |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

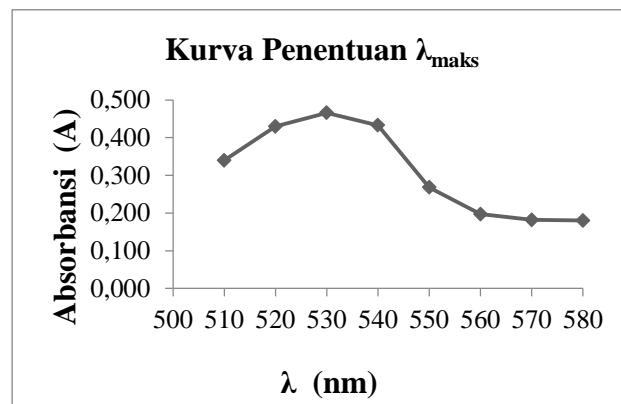
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

## 3.3. Pengukuran Kadar Malondialdehida (MDA)

### 3.3.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

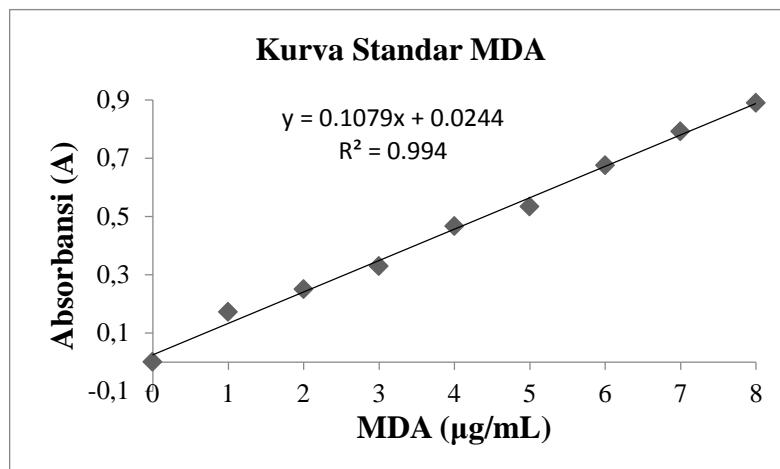
**Tabel 3.3.1.** Absorbansi Larutan Standar MDA pada  $\lambda$  500-600 nm.

| Panjang Gelombang (nm) | Absorbansi   |
|------------------------|--------------|
| 510                    | 0,340        |
| 520                    | 0,430        |
| <b>530</b>             | <b>0,466</b> |
| 540                    | 0,433        |
| 550                    | 0,268        |
| 560                    | 0,197        |
| 570                    | 0,182        |
| 580                    | 0,180        |



**Gambar 3.3.1.** Kurva Penentuan Panjang Gelombang Maksimum MDA**3.3.2. Pembuatan Kurva Baku MDA****Tabel 3.3.2.** Data Pengukuran Larutan Standar MDA pada  $\lambda$  530 nm

| Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Absorbansi |
|----------------------------------|------------|
| 0                                | 0          |
| 1                                | 0,171      |
| 2                                | 0,249      |
| 3                                | 0,329      |
| 4                                | 0,466      |
| 5                                | 0,533      |
| 6                                | 0,675      |
| 7                                | 0,791      |
| 8                                | 0,889      |

**Gambar 3.3.2.** Kurva Baku MDA**3.3.3. Perhitungan Kadar Malondialdehida (MDA)**

Kadar MDA (Malondialdehida) dapat diketahui dengan menggunakan persamaan kurva standar MDA  $y = 0,1079x + 0,0244$ . Kadar MDA sebagai nilai  $x$ .  $y$  = absorbansi dan  $x$  = kadar MDA.

**3.3.3.1. Kadar Malondialdehida (MDA) Kontrol Negatif**

$$\begin{array}{ll}
 1. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,03 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 0,03 - 0,0244 & = 0,1079 x \\
 0,0056 & = 0,1079 x \\
 x & = \underline{\underline{0,0056}} \\
 & 0,1079 \\
 & = 0,052 \mu\text{g/mL}
 \end{array}
 \quad
 \begin{array}{ll}
 2. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,055 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 0,055 - 0,0244 & = 0,1079 x \\
 0,0306 & = 0,1079 \\
 x & = \underline{\underline{0,0306}} \\
 & 0,1079 \\
 & = 0,283 \mu\text{g/mL}
 \end{array}$$

$$\begin{array}{ll}
 3. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,073 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,073 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,0486 = 0,1079 \\
 & x = \underline{0,0486} \\
 & 0,1079 \\
 & = 0,450 \mu\text{g/mL}
 \end{array}
 \quad
 \begin{array}{ll}
 4. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,052 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,052 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,0276 = 0,1079 \\
 & x = \underline{0,0276} \\
 & 0,1079 \\
 & = 0,256 \mu\text{g/mL}
 \end{array}$$

### 3.3.3.2. Kadar Malondialdehida (MDA) Kontrol Positif

$$\begin{array}{ll}
 1. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,27 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,27 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,2456 = 0,1079 x \\
 & x = \underline{0,2456} \\
 & 0,1079 \\
 & = 2,276 \mu\text{g/mL}
 \end{array}
 \quad
 \begin{array}{ll}
 2. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,301 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,301 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,2766 = 0,1079 \\
 & x = \underline{0,2766} \\
 & 0,1079 \\
 & = 2,563 \mu\text{g/mL}
 \end{array}$$
  

$$\begin{array}{ll}
 3. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,531 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,531 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,5066 = 0,1079 \\
 & x = \underline{0,5066} \\
 & 0,1079 \\
 & = 4,695 \mu\text{g/mL}
 \end{array}
 \quad
 \begin{array}{ll}
 4. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,433 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,433 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,4086 = 0,1079 \\
 & x = \underline{0,4086} \\
 & 0,1079 \\
 & = 3,787 \mu\text{g/mL}
 \end{array}$$

### 3.3.3.3. Kadar Malondialdehida (MDA) Kontrol Obat

$$\begin{array}{ll}
 1. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,236 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,236 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,2116 = 0,1079 x \\
 & x = \underline{0,2116} \\
 & 0,1079 \\
 & = 1,961 \mu\text{g/mL}
 \end{array}
 \quad
 \begin{array}{ll}
 2. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,239 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,239 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,2146 = 0,1079 \\
 & x = \underline{0,2146} \\
 & 0,1079 \\
 & = 1,989 \mu\text{g/mL}
 \end{array}$$

$$\begin{array}{ll}
 3. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,187 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,187 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,1626 = 0,1079 \\
 & x = \underline{0,1626} \\
 & 0,1079 \\
 & = 1,507 \mu\text{g/mL}
 \end{array}
 \quad
 \begin{array}{ll}
 4. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,219 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,219 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,1946 = 0,1079 \\
 & x = \underline{0,1946} \\
 & 0,1079 \\
 & = 1,803 \mu\text{g/mL}
 \end{array}$$

### 3.3.3.4. Kadar Malondialdehida (MDA) Kontrol Terapi 1

$$\begin{array}{ll}
 1. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,237 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,237 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,2126 = 0,1079 x \\
 & x = \underline{0,2126} \\
 & 0,1079 \\
 & = 01,970 \mu\text{g/mL}
 \end{array}
 \quad
 \begin{array}{ll}
 2. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,285 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,285 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,2606 = 0,1079 \\
 & x = \underline{0,2606} \\
 & 0,1079 \\
 & = 2,415 \mu\text{g/mL}
 \end{array}
 \\
 \begin{array}{ll}
 3. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,273 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,273 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,2486 = 0,1079 \\
 & x = \underline{0,2486} \\
 & 0,1079 \\
 & = 2,304 \mu\text{g/mL}
 \end{array}
 \quad
 \begin{array}{ll}
 4. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,312 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,312 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,2876 = 0,1079 \\
 & x = \underline{0,2876} \\
 & 0,1079 \\
 & = 2,665 \mu\text{g/mL}
 \end{array}$$

### 3.3.3.5. Kadar Malondialdehida (MDA) Kontrol Terapi 2

$$\begin{array}{ll}
 1. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,069 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,069 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,0446 = 0,1079 x \\
 & x = \underline{0,0446} \\
 & 0,1079 \\
 & = 0,413 \mu\text{g/mL}
 \end{array}
 \quad
 \begin{array}{ll}
 2. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,381 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,381 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,0566 = 0,1079 \\
 & x = \underline{0,0566} \\
 & 0,1079 \\
 & = 3,305 \mu\text{g/mL}
 \end{array}
 \\
 \begin{array}{ll}
 3. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,225 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,225 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,2006 = 0,1079 \\
 & x = \underline{0,2006} \\
 & 0,1079 \\
 & = 1,859 \mu\text{g/mL}
 \end{array}
 \quad
 \begin{array}{ll}
 4. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,252 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,252 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,2276 = 0,1079 \\
 & x = \underline{0,2276} \\
 & 0,1079 \\
 & = 2,109 \mu\text{g/mL}
 \end{array}$$

### 3.3.3.6. Kadar Malondialdehida (MDA) Kontrol Terapi 3

$$\begin{array}{ll}
 1. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,118 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,118 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,0936 = 0,1079 x \\
 & x = \underline{\underline{0,0936}} \\
 & 0,1079 \\
 & = 0,867 \mu\text{g/mL} \\
 \\ 
 2. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,091 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,091 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,0666 = 0,1079 \\
 & x = \underline{\underline{0,0666}} \\
 & 0,1079 \\
 & = 0,617 \mu\text{g/mL} \\
 \\ 
 3. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,073 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,073 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,0486 = 0,1079 \\
 & x = \underline{\underline{0,0486}} \\
 & 0,1079 \\
 & = 0,450 \mu\text{g/mL} \\
 \\ 
 4. & y = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,033 = 0,1079 x + 0,0244 \\
 & 0,033 - 0,0244 = 0,1079 x \\
 & 0,0086 = 0,1079 \\
 & x = \underline{\underline{0,0086}} \\
 & 0,1079 \\
 & = 0,079 \mu\text{g/mL}
 \end{array}$$

### 3.3.4. Persentase Kenaikan Kadar MDA pada Hati

Presentasi kenaikan kerusakan oksidatif hati tikus dengan diet tinggi purin terhadap tikus normal yang tidak mendapat perlakuan (kontrol negatif) sebagai berikut :

1. Perlakuan tikus kontrol negatif :

$$\begin{aligned}
 \% \text{ kadar MDA} &= \frac{\text{Rataan sakit} - \text{Rataan normal}}{\text{Rataan normal}} \\
 &= \frac{3,330 - 0,260}{0,260} \\
 &= 1.180,77 \%
 \end{aligned}$$

### 3.3.5. Presentasi Penurunan Kadar MDA pada Hti

Presentasi penurunan kerusakan oksidatif hati tikus dengan diet tinggi purin yang diterapi ekstrak teh hijau sebagai berikut :

1. Perlakuan tikus kontrol obat allopurinol 5 mg/kg BB:

$$\begin{aligned}
 \% \text{ penurunan kadar MDA hati} &= \frac{\text{Rataan sakit} - \text{Rataan Terapi}}{\text{Rataan sakit}} \\
 &= \frac{3,330 - 1,815}{3,330} \\
 &= 45,50 \%
 \end{aligned}$$

2. Perlakuan tikus terapi ekstrak teh hijau 150 mg/kg BB:

$$\begin{aligned}\% \text{ penurunan kadar MDA hati} &= \frac{\text{Rataan sakit} - \text{Rataan Terapi}}{\text{Rataan sakit}} \\ &= \frac{3,330 - 2,339}{3,330} \\ &= 29,78 \%\end{aligned}$$

3. Perlakuan tikus terapi terapi ekstrak teh hijau 300 mg/kg BB:

$$\begin{aligned}\% \text{ penurunan kadar MDA hati} &= \frac{\text{Rataan sakit} - \text{Rataan Terapi}}{\text{Rataan sakit}} \\ &= \frac{3,330 - 1,922}{3,330} \\ &= 42,30 \%\end{aligned}$$

4. Perlakuan tikus terapi ekstrak teh hijau 600 mg/kg BB:

$$\begin{aligned}\% \text{ penurunan kadar MDA hati} &= \frac{\text{Rataan sakit} - \text{Rataan Terapi}}{\text{Rataan sakit}} \\ &= \frac{3,330 - 0,504}{3,330} \\ &= 84,87 \%\end{aligned}$$

**3.3.6. Tabel Kadar Malondialdehida (MDA) pada Hati**

| Kelompok Perlakuan          | Absorbansi | Rata-rata Absorbansi | Kadar MDA ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Rata-rata Kadar MDA ( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|-----------------------------|------------|----------------------|--------------------------------|------------------------------------------|
| Kontrol negatif             | 0,03       | 0,052                | 0,052                          | $0,260 \pm 0,1415$                       |
|                             | 0,055      |                      | 0,283                          |                                          |
|                             | 0,073      |                      | 0,450                          |                                          |
|                             | 0,052      |                      | 0,256                          |                                          |
| Kontrol positif             | 0,27       | 0,382                | 2,276                          | $3,330 \pm 0,9708$                       |
|                             | 0,301      |                      | 2,563                          |                                          |
|                             | 0,531      |                      | 4,695                          |                                          |
|                             | 0,433      |                      | 3,787                          |                                          |
| Dosis obat 5 mg/kg BB       | 0,236      | 0,220                | 1,961                          | $1,815 \pm 0,1914$                       |
|                             | 0,239      |                      | 1,989                          |                                          |
|                             | 0,187      |                      | 1,507                          |                                          |
|                             | 0,219      |                      | 1,803                          |                                          |
| Dosis terapi 1 150 mg/kg BB | 0,237      | 0,277                | 1,970                          | $2,339 \pm 0,2497$                       |
|                             | 0,285      |                      | 2,415                          |                                          |
|                             | 0,273      |                      | 2,304                          |                                          |
|                             | 0,312      |                      | 2,665                          |                                          |
| Dosis terapi 2 300 mg/kg BB | 0,069      | 0,232                | 0,413                          | $1,922 \pm 1,0280$                       |
|                             | 0,381      |                      | 3,305                          |                                          |
|                             | 0,225      |                      | 1,859                          |                                          |
|                             | 0,252      |                      | 2,109                          |                                          |
| Dosis terapi 3 600 mg/kg BB | 0,118      | 0,079                | 0,867                          | $0,504 \pm 0,2863$                       |
|                             | 0,091      |                      | 0,617                          |                                          |
|                             | 0,073      |                      | 0,450                          |                                          |
|                             | 0,033      |                      | 0,079                          |                                          |

### 3.3.7. Uji Statistika Kadar Malondialdehid (MDA) pada Hati

#### 3.3.7.1. Uji Kenormalan

Tests of Normality

|           | KelompokTikus | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|-----------|---------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|           |               | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| Kadar MDA | negatif       | .232                            | 4  | .    | .971         | 4  | .848 |
| Hati      | positif       | .254                            | 4  | .    | .922         | 4  | .547 |
|           | obat          | .201                            | 4  | .    | .987         | 4  | .943 |
|           | terapi1       | .230                            | 4  | .    | .973         | 4  | .862 |
|           | terapi2       | .245                            | 4  | .    | .874         | 4  | .314 |
|           | terapi3       | .184                            | 4  | .    | .988         | 4  | .949 |

a. Lilliefors Significance Correction

#### 3.3.7.2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Kadar MDA Hati

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 3.592            | 5   | 18  | .020 |

#### 3.3.7.3. Uji ANOVA

ANOVA

Kadar MDA Hati

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 26.519         | 5  | 5.304       | 10.863 | .000 |
| Within Groups  | 8.788          | 18 | .488        |        |      |
| Total          | 35.307         | 23 |             |        |      |

### 3.3.7.4. Uji Tukey

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar MDA Hati

Tukey HSD

| (I)<br>Kelompok<br>kTikus | (J) KelompokTikus | Mean<br>Difference (I-J) | Std. Error | Sig.  | 95% Confidence Interval |             |
|---------------------------|-------------------|--------------------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
|                           |                   |                          |            |       | Lower Bound             | Upper Bound |
| negatif                   | positif           | -3.07250*                | .49409     | .000  | -4.6427                 | -1.5023     |
|                           | obat              | -2.07750*                | .49409     | .006  | -3.6477                 | -.5073      |
|                           | terapi1           | -1.66250*                | .49409     | .034  | -3.2327                 | -.0923      |
|                           | terapi2           | -1.55500                 | .49409     | .053  | -3.1252                 | .0152       |
|                           | terapi3           | -.24750                  | .49409     | .995  | -1.8177                 | 1.3227      |
| positif                   | negatif           | 3.07250*                 | .49409     | .000  | 1.5023                  | 4.6427      |
|                           | obat              | .99500                   | .49409     | .373  | -.5752                  | 2.5652      |
|                           | terapi1           | 1.41000                  | .49409     | .093  | -.1602                  | 2.9802      |
|                           | terapi2           | 1.51750                  | .49409     | .062  | -.0527                  | 3.0877      |
|                           | terapi3           | 2.82500*                 | .49409     | .000  | 1.2548                  | 4.3952      |
| obat                      | negatif           | 2.07750*                 | .49409     | .006  | .5073                   | 3.6477      |
|                           | positif           | -.99500                  | .49409     | .373  | -2.5652                 | .5752       |
|                           | terapi1           | .41500                   | .49409     | .956  | -1.1552                 | 1.9852      |
|                           | terapi2           | .52250                   | .49409     | .892  | -1.0477                 | 2.0927      |
|                           | terapi3           | 1.83000*                 | .49409     | .017  | .2598                   | 3.4002      |
| terapi1                   | negatif           | 1.66250*                 | .49409     | .034  | .0923                   | 3.2327      |
|                           | positif           | -1.41000                 | .49409     | .093  | -2.9802                 | .1602       |
|                           | obat              | -.41500                  | .49409     | .956  | -1.9852                 | 1.1552      |
|                           | terapi2           | .10750                   | .49409     | 1.000 | -1.4627                 | 1.6777      |
|                           | terapi3           | 1.41500                  | .49409     | .092  | -.1552                  | 2.9852      |
| terapi2                   | negatif           | 1.55500                  | .49409     | .053  | -.0152                  | 3.1252      |
|                           | positif           | -1.51750                 | .49409     | .062  | -3.0877                 | .0527       |
|                           | obat              | -.52250                  | .49409     | .892  | -2.0927                 | 1.0477      |
|                           | terapi1           | -.10750                  | .49409     | 1.000 | -1.6777                 | 1.4627      |
|                           | terapi3           | 1.30750                  | .49409     | .136  | -.2627                  | 2.8777      |
| terapi3                   | negatif           | .24750                   | .49409     | .995  | -1.3227                 | 1.8177      |
|                           | positif           | -2.82500*                | .49409     | .000  | -4.3952                 | -1.2548     |
|                           | obat              | -1.83000*                | .49409     | .017  | -3.4002                 | -.2598      |
|                           | terapi1           | -1.41500                 | .49409     | .092  | -2.9852                 | .1552       |
|                           | terapi2           | -1.30750                 | .49409     | .136  | -2.8777                 | .2627       |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### 3.3.7.5. Uji Tukey (Ulangan)

**Kadar MDA Hati**

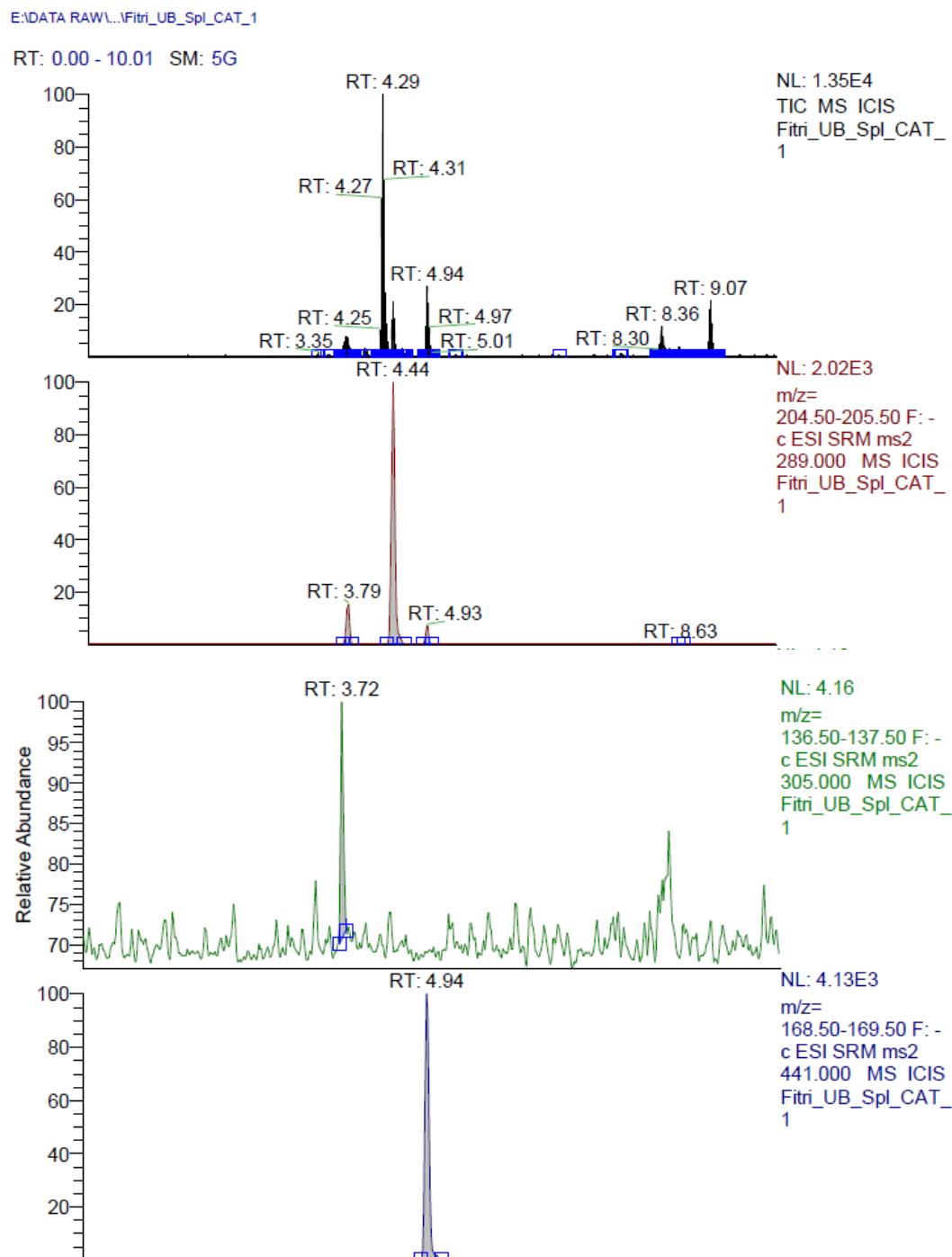
Tukey HSD<sup>a</sup>

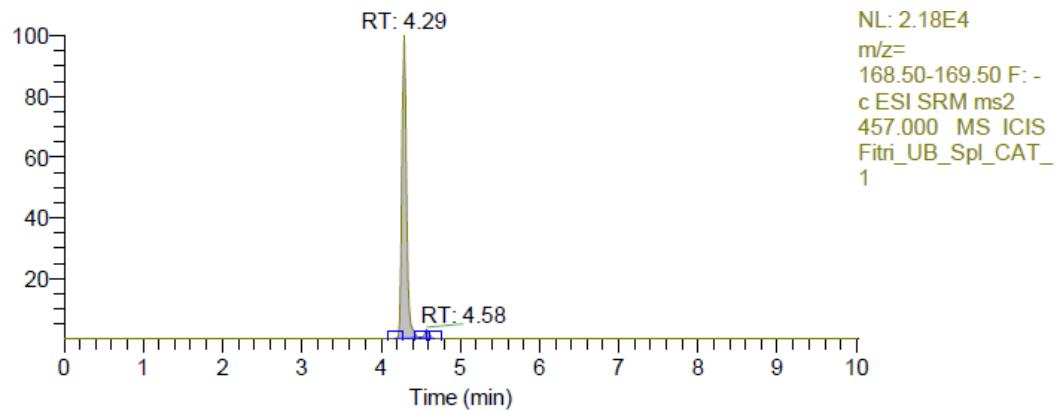
| KelompokTikus | N | Subset for alpha = 0.05 |        |        |
|---------------|---|-------------------------|--------|--------|
|               |   | 1                       | 2      | 3      |
| negatif       | 4 | .2575                   |        |        |
| terapi3       | 4 | .5050                   | .5050  |        |
| terapi2       | 4 | 1.8125                  | 1.8125 | 1.8125 |
| terapi1       | 4 |                         | 1.9200 | 1.9200 |
| obat          | 4 |                         |        | 2.3350 |
| positif       | 4 |                         |        | 3.3300 |
| Sig.          |   | .053                    | .092   | .062   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

**LAMPIRAN 4. KROMATOGRAM KUALITATIF EKSTRAK TEH HIJAU  
DENGAN UHPLC/MS/MS**





**LAMPIRAN 5. SERTIFIKAT LAIK ETIK**

|                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>KOMISI ETIK PENELITIAN<br/>UNIVERSITAS BRAWIJAYA</b>                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>KETERANGAN KELAIKAN ETIK<br/>"ETHICAL CLEARENCE"</b>                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                    |
| No:689-KEP-UB                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                    |
| KOMISI ETIK PENELITIAN ( <i>ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE</i> )<br>UNIVERSITAS BRAWIJAYA                                                              |                                                                                                                                                                                                                                    |
| TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG<br>DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:                                            |                                                                                                                                                                                                                                    |
| PENELITIAN BERJUDUL                                                                                                                                   | : PENGARUH TERAPI EKSTRAK TEH HIJAU ( <i>Camellia sinensis</i> ) TERHADAP KADAR ASAM URAT, XANTIN OXIDASE (XOD), MALONDIALDEHIDE (MDA), DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA TIKUS PUTIH ( <i>Rattus norvegicus</i> ) HIPURISEMIA |
| PENELITI<br>UNIT/LEMBAGA/TEMPAT                                                                                                                       | : FITRIA RAHMAWATI<br>: UNIVERSITAS BRAWIJAYA                                                                                                                                                                                      |
| DINYATAKAN                                                                                                                                            | : LAIK ETIK                                                                                                                                                                                                                        |
| Malang, 25 Januari 2017<br>Ketua Komisi Etik Penelitian<br>Universitas Brawijaya                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                    |
| <br>Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.<br>NIP. 19600903 198802 2 001 |                                                                                                                                                                                                                                    |

**LAMPIRAN 6. SERTIFIKAT BEBAS PLAGIASI**