

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini bersifat eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi suhu seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap aktivitas penurunan kadar asam urat. Pada penelitian ini digunakan mencit galur balb-C sebanyak 20 ekor dengan masing masing perlakuan 4 ekor mencit. Kelompok kontrol positif digunakan sebagai pembanding, kontrol negatif digunakan untuk mengetahui kadar asam tanpa pemberian perlakuan. Tahapan yang dilakukan pada penelitian ini meliputi pembuatan seduhan daun salam menggunakan variasi suhu seduhan, kemudian identifikasi senyawa flavonoid, pemberian seduhan daun salam kepada hewan uji (mencit), dan pengukuran kadar asam urat darah pada mencit.

#### **3.2 Populasi Dan Sampel Penelitian**

##### **3.2.1 Populasi**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum*).

##### **3.2.2 Sampel**

Sampel merupakan bagian dari populasi yang akan diteliti. Sampel yang akan digunakan adalah variasi suhu seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum*).

### 3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

#### 3.3.1 Lokasi

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.

#### 3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam kurun waktu dari bulan Mei - Juni 2019.

### 3.4 Definisi Oprasional Variabel

Definisi operasional dalam penelitian ini terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi suhu seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum*). Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas penurunan kadar asam urat pada darah mencit.

**Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel**

Variabel	Definisi variabel	Alat ukur	Hasil ukur	Skala ukur
Bebas: variasi suhu seduhan daun salam	Variasi suhu seduhan daun salam menggunakan air panas sebanyak 200 ml	Gelas Ukur, termome ter.	Suhu 25°C 50°C 90°C	Nominal
Terikat : Aktivitas penurunan kadar asam urat darah	Kadar asam urat sesudah pemberian induksi dan sesudah pemberian seduhan.	Easy touch	Satuan mg/dl	Numerik

### 3.5 Instrumen Penelitian

#### 3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam proses penelitian ini antara lain sebagai berikut: neraca analitik digital (Ohaus), alat gelas (Pyrex), spuit dengan jarum suntik

(Terumo), timbangan digital (Camry), restraint holder rat, easytouch GCU, strip asam urat (*easytouch blood uric acid*) dan *beaker glass* (pyrex).

### 3.5.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam proses penelitian ini antara lain sebagai berikut: simplisia daun salam segar, allopurinol, pakan mencit, aquadest, air hangat dan hati ayam.

## 3.6 Pengumpulan Data

### 3.6.1 Tahap Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia daun salam dapat dilakukan dengan mengacu pada penelitian sebelumnya (Hidayah, 2017), dilakukan modifikasi yaitu sebagai berikut:

1. Dikumpulkan bahan baku yaitu daun salam dengan memilih daun yang masih muda hampir ke tua dan bewarna hijau segar.
2. Disortasi basah daun dengan cara membersihkan kotoran yang masih menempel pada daun serta pemilihan daun yang sehat.
3. Dicuci daun salam dengan dialirkan air bersih.
4. Dikeringkan daun salam dengan cara dipanaskan dengan sinar matahari langsung.
5. Disortasi kering daun yang sudah kering dan daun yang masih basah serta memisahkan daun dari kotoran yang masih menempel.
6. Dibuat simplisia dengan memblender daun salam yang sudah kering.
7. Disimpan dan ditutup rapat pada toples kaca berwarna gelap untuk menghindari kerusakan simplisia.

### 3.6.2 Uji Identifikasi Flavonoid

1. Disiapkan alat dan bahan.
2. Diambil 0,5 gram simplisia daun salam
3. Diletakkan pada tabung reaski.
4. Ditambahkan 10 ml air panas
5. Dikocok sampai homogen.
6. Disaring campuran dan diambil fitratnya.
7. Ditambahkan 0,2 gram serbuk Mg dan 3 tetes HCl pada hasil fitrat.
8. Dikocok lagi dengan kuat, terbentuknya warna merah pada lapisan menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Sahputra, 2008).

### 3.6.3 Persiapan Hewan Uji

Mencit diaklimatisasi selama 1 minggu, ditempatkan didalam kandang berukuran besar (1 kandang berisi 6 mencit). Perawatan mencit dilakukan secara rutin dengan memberikan pakan standar dan air minum secukupnya selama penelitian, pemberian pakan dan minum dilakukan satu hari sekali. Mencit yang sehat berusia 1-3 bulan dan memiliki berat badan antara 20-30 gram. Memiliki ciri-ciri, seperti warna bulu putih bersih dan tidak berdiri, mata jernih bersinar, serta berat badan bertambah atau tidak berkurang setiap harinya. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok terdiri dari kontrol positif, kontrol negatif, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 dimana dalam pengelompokan tersebut terdapat 4 ekor mencit dalam 1 kelompok.

### 3.6.4 Perhitungan dosis

#### 3.6.4.1 Dosis Iduksi Hiperurisemia

Hati ayam memiliki konsentrasi purina yang sangat tinggi yaitu 250g/kgBB hati ayam (Bertika 2009). Pemberian dilakukan secara oral dengan menggunakan sonde oral selama 14 hari perlakuan.

#### 3.6.4.2 Persiapan dosis seduhan daun salam.

1. Ditimbang simplisia daun salam sebanyak 200 mg.
2. Diseduh dengan air mendidih dengan suhu sebanyak 200 mL.
3. Dituang kedalam beaker glass yang berisi simplisia dengan variasi suhu 25°C, 50°C dan 90°C.
4. Ditungkat menggunakan aluminium foil selama 10 menit.

#### 3.6.4.3 Dosis allopurinol

Dosis allopurinol yang akan diberikan kepada mencit yaitu 300 mg/kgBB, berupa suspensi yang dilarutkan dengan aquades (Natasya 2015).

#### 3.6.4.4 Analisis Aktivitas hiperurisemia

Dipilih 20 mencit yang sehat dengan berat rata-rata 20 gram, kemudian dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol positif, kontrol negatif, dan perlakuan 1, 2, dan 3, dengan masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor mencit. Mencit tersebut diaklimatisasi selama 7 hari dengan diberi pakan standar.

Pada hari ke 8 dicek asam urat awal pada mencit sebelum induksi, kemudian diberikan makan tinggi purin yaitu hati hati ayam selama 14 hari berturut turut pada masing-masing mencit dengan pemberian 2 kali sehari, kemudian dicek kadar asam urat mencit setelah pemberian induksi hati ayam untuk melihat kenaikan kadar asam urat. Setelah dilakukan induksi hiperurisemia maka dilanjutkan dengan pemberian perlakuan yaitu pemberian variasi suhu seduhan daun salam yang bertujuan untuk menurunkan kadar asam urat darah. Kemudian melihat aktivitas

variasi suhu seduhan daun salam yang paling optimum sebagai penurunan kadar asam urat menggunakan *easy touch*.

#### 3.6.4.5 Penetapan penurunan Kadar Asam Urat

Uji penetapan penurunan kadar dalam penelitian ini dilihat dari hasil pengecekan kadar asam urat sebelum dan sesudah pemberian variasi suhu seduhan daun salam yang paling optimum. Untuk melihat penurunan kadar asam urat pada darah mencit putih jantan yang dibuat hiperurisemia.

### **3.7 Analisis Data**

Analisis data dalam penelitian ini adalah data pengaruh variasi suhu pemberian daun salam paling optimum dalam penurunan kadar asam urat. Sebelum dilakukan analisis data dilakukan uji distribusi normalitas dan uji homogenitas kemudian Dianalisis secara statistik menggunakan Analisis of Variance (*One Way Anova* ) dan bila didapatkan hasil berbeda nyata dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test Duncan*.