

UJI PENGHAMBATAN XANTHINE OXIDASE OLEH EKSTRAK DAUN TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis*) PADA MENCIT HIPERURISEMIA

Muhtadi¹⁾, Nurcahyanti Wahyuningtyas²⁾, EM Sutrisna³⁾, Andi Suhendi⁴⁾, dan Heny Frastyowati⁵⁾

¹Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
email: muhtadi@ums.ac.id

²Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
email: nurcahyanti.wahyuningtyas@ums.ac.id

Abstract

Tempuyung (Sonchus arvensis) have been investigated in a single dose can lower uric acid in mice. The purpose of this research investigated the inhibition of xanthine oxidase activity in hyperuricemic mice. Hyperuricemia was induced by intraperitoneal injection of 250 mg/kgBW potassium oxonate in mice. Fifteen mice were divided into three equal groups, in group 1 each animal received 0,5 mL/BW water, in group 2 received 10 mg/kgBW allopurinol, and in group 3 received 200 mg/BW tempuyung water extract leaves by oral administration for four days. Liver taken was after 2 hours of administration of potassium oxonate. Data xanthine oxidase activity was tested with Mann-Whitney. The results showed that 200 mg/kg tempuyung leaf extract had inhibition of the xanthine oxidase 70,30%±3,70% (p=0,009) while the allopurinol 90,24%± 0,33% (p=0,009).

Keywords: *tempuyung (Sonchus arvensis), xanthine oxidase, potassium oxonate*

1. PENDAHULUAN

Hiperurisemia adalah keadaan dimana terjadi peningkatan kadar asam urat di atas normal yaitu > 7 mg/dL (Haidari, 2009; Priyanto, 2008). Pengendalian produksi asam urat dianggap sebagai faktor kunci dalam pencegahan dan pengobatan hiperurisemia (Haidari *et al.*, 2009). Pengobatan hiperurisemia dapat dilakukan dengan dua cara, yakni dengan urikosurik dan urikostatik. Urikosurik bekerja dengan meningkatkan eliminasi asam urat (misalnya : probenesid, sulfipirazon, dan bensbromaron) sedangkan urikostatik bekerja dengan mengurangi pembentukan asam urat dan meningkatkan pembentukan *xanthine* serta *hypoxanthine* dengan menghambat *xanthine oxidase* misalnya allopurinol (Mansjoer, 2000; Mutschler, 1991). Katabolik *xanthine oxidase* (XO) mengubah *hypoxanthine* menjadi *xanthine* dan pada tahap akhir metabolisme purin *xanthine* diubah menjadi asam urat. XO merupakan target menarik untuk dikembangkan menjadi obat gout dan

hiperurisemia (Huang *et al.*, 2008).

Allopurinol merupakan antihiperurisemia pilihan pada pasien yang mengalami gangguan ginjal, gagal ginjal dan over produksi asam urat (Priyanto, 2008). Allopurinol merupakan salah satu obat yang digunakan untuk menurunkan produksi asam urat dengan menghambat XO, tetapi penggunaan obat ini dapat menyebabkan hepatitis, nefropati, dan reaksi alergi (Ganong dan William, 2003; Huang *et al.*, 2008). Inhibitor XO dari alam perlu dikembangkan sebagai alternatif pengobatan karena mempunyai efek samping lebih rendah dibandingkan allopurinol misalnya daun tempuyung. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas penghambatan enzim *xanthine oxidase* oleh ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) secara *in vivo*.

2. KAJIAN LITERATUR

Daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang dapat menurunkan kadar asam urat dan

mengandung senyawa luteolin (Muhtadi dkk, 2010). Penelitian lain menyebutkan bahwa daun tempuyung memiliki kandungan kimia berupa 5,7,3',4'-tetrahidroksi flavon (luteolin), 5,7,4'-trihidroksi flavon (apigenin), luteolin 7-O-glukosida, dan apigenin 7-O-glukosida (Djunaedi dkk, 2003). Pada percobaan *in vitro*, daya inhibisi maksimum tempuyung terhadap XO pada ekstrak air 14,46% (125 ppm), ekstrak etanol 11,2% (200 ppm), dan ekstrak flavonoid 11,13% (200 ppm) (Wardani, 2008).

Hasil penelitian Muhtadi dkk (2010) sebelumnya, diketahui bahwa ekstrak daun tempuyung dosis 200 mg/kgBB memberikan efek penurunan kadar asam urat dimana nilai signifikansinya sebesar 0,838 ($p > 0,05$). Flavonoid daun tempuyung yaitu apigenin mempunyai harga IC_{50} 0,70 μ M sedangkan luteolin mempunyai harga IC_{50} 0,55 μ M terhadap penghambatan XO (Cos *et al.*, 1998).

Pada penelitian Nagao *et al* (1999), luteolin mempunyai IC_{50} 0,96 μ M. Berdasarkan hasil dari penelitian di atas, maka diperlukan penelitian ekstrak daun tempuyung lebih lanjut terhadap aktivitas XO secara *in vivo* pada mencit hiperurisemia.

3. METODE PENELITIAN

Alat: *vacum dry oven* (J.P. Selecta, s.a), timbangan analitik (Presica A-SCS), alat-alat gelas (Pyrex), sendok tanduk, propipet, pipet tetes, flakon, homogenizer, sentrifuge dingin (Mini Spin), vortex (Barnstead Thermolyne), sonifikator (Branson 1510), waterbath, mikropipet ukuran 5-40 μ L dan 200-1000 μ L, spektrofotometri UV-Vis (UV-mini Shimadzu 1240), kuvet, timbangan mencit kapasitas 2610 gram (Ohaus), spuit injeksi volume 1,0 mL dan 3,0 mL (Terumo), spuit oral ukuran 18 gauge dan alat bedah.

Bahan: ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*, L.) yang diperoleh dari tim RAPID dengan cara dekokta, allopurinol p.a (Sigma Aldrich Chemical Co.), aquadest p.i., *potassium oxonate* p.a.

(Sigma Aldrich Chemical Co.), mencit putih jantan galur *Swiss*, xanthine oxidase p.a, bovin serum albumin (Sigma Aldrich Chemical Co.), *xanthine* p.a (Sigma Aldrich Chemical Co.), es batu, aquadest, NaCl 0,9% p.a, KCl p.a, NaEDTA p.a, *phosphate buffer* (pH 7,4) p.a, ammonium sulfat p.a, dapar asetat pH 5 p.a, larutan asam fosfotungstat-asam fosfomolibdat p.a, natrium karbonat p.a, natrium hidroksida 0,1 N p.a, tembaga (II) sulfat 1% p.a dan kalium natrium tartrat 2% p.a, dan HCl p.a (0,6 N).

Jalan Penelitian

Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Muhtadi dkk (2010) bahwa ekstrak air daun tempuyung 200 mg/kgBB berpotensi dalam menurunkan asam urat.

Penentuan dosis

1. Dosis *potassium oxonate* yang digunakan adalah 250 mg/kgBB (Muhtadi dkk, 2010).
2. Dosis allopurinol yang digunakan adalah 10 mg/kgBB (Muhtadi dkk, 2010).
3. Dosis ekstrak air daun tempuyung adalah 200 mg/kgBB (Muhtadi dkk, 2010).

Pengkondisian hewan uji

Hewan uji diadaptasi terlebih dahulu selama satu minggu dengan suhu kandang pada lingkungan penelitian. Hewan uji tidak diberi makan 1 jam sebelum penelitian dimulai (Haidari *et al.*, 2009).

Pembuatan hiperurisemia

Pembuatan hiperurisemia dilakukan dengan menginjeksikan *potassium oxonate* 250 mg/kgBB secara i.p 1 jam sebelum pemberian sediaan uji. Pengambilan sampel hati dilakukan setelah 2 jam pemberian *potassium oxonate*. (Haidari *et al.*, 2009).

Perlakuan pada hewan uji

Lima belas ekor mencit jantan galur *Swiss* dibagi menjadi 3 kelompok sama banyak. Masing-masing kelompok diinduksi *potassium oxonate* i.p 250 mL/kgBB setiap jam 07.00 selama 4 hari, 1 jam kemudian diberi sediaan uji sebagai berikut:

1. Kontrol negatif: aquadest p.o 0,5 mL/20 gramBB;
2. Kontrol positif: allopurinol p.o 10 mg/kgBB.;
3. Perlakuan : ekstrak daun tempuyung p.o 200mg/kgBB.

Pengambilan sampel hati

Pada hari ke-4, 2 jam setelah pemberian *potassium oxonate* (pukul 09.00 WIB) mencit didislokasi untuk diambil hatinya. Hati dicuci dengan 0,9% NaCl dan preparasi dilakukan dalam keadaan dingin/dalam es untuk mencegah enzim terdegradasi dan menjadi rusak. Hati dibagi menjadi 2 kelompok @ 1 gram untuk dilakukan penetapan kadar XO dan kadar protein.

Pembuatan kurva baku XO

Konsentrasi larutan stok: 1,25 mg XO dilarutkan dengan aquadest ad 100,0 mL sehingga diperoleh konsentrasi 0,1 Unit/mL.

Pembuatan kurva baku: Larutan stok diambil 10; 20; 30; 40; 50; 60; 70; 80; dan 90 μ L, masing-masing ditambah 1 mL *xanthine* 50 μ M dan *phosphate buffer* 50 μ M (pH 7,4) ad 5 mL. Kemudian diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37 °C. Lalu, ditambah 0,5 mL HCl 0,6 N. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum yaitu 290 nm. Hasil persamaan kurva baku yang diperoleh yaitu $y = 720,9x - 0,021$ dengan $r = 0,997$.

Penetapan aktivitas XO: Hati yang telah dicuci dengan 0,9% NaCl, ditempatkan pada 1,15% $\frac{b}{v}$ KCl yang

mengandung 0,1 mM EDTA. Hati ditimbang sebanyak 1 gram, dipotong-potong dan dihomogenasi dalam 4 mL *phosphate buffer* 50 mM (pH 7,4). Homogenat disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dan dimasukkan dalam tabung ependorf. Supernatan disentrifuge kembali dengan kecepatan 15000 rpm selama 60 menit pada suhu 4°C. Uji XO dilakukan dengan mengambil 100,0 μ L supernatan, lalu ditambahkan 1 mL *xanthine* 50 μ M dan *phosphate buffer* 50 μ M (pH 7,4) ad 5 mL. Campuran tersebut diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C, lalu ditambah 0,5 mL HCl 6 N. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang maksimum 290 nm dan pembacaan dilakukan 2x. Satu unit aktivitas XO didefinisikan sebagai 1 μ mol *xanthine* yang dikonversi menjadi asam urat per menit pada suhu 37°C dan pH 7,4.

Pembuatan kurva baku metode Lowry

Konsentrasi larutan stok: 5,0 mg bovin serum albumin dilarutkan dengan aquadest 10,0 mL sehingga diperoleh larutan stok 0,5%.

Penentuan operating time (OT): Larutan stok 500 μ L ditambah aquadest 500 μ L, kemudian ditambah reagen Lowry B 8 mL dan ditunggu sampai 10 menit. Setelah itu ditambah reagen Lowry A 1 mL. Absorbansinya diukur dengan spektrofotometri UV Vis setiap 1 menit. Absorbansi yang paling stabil merupakan OT yaitu 20 menit.

Penentuan panjang gelombang: Larutan stok 500 μ L ditambah aquadest 500 μ L. Kemudian ditambah reagen Lowry B 8 mL dan ditunggu sampai 10 menit. Reagen Lowry A ditambahkan sebanyak 1 mL dan ditunggu 20 menit. Absorbansi diukur pada spektrofotometri UV Vis mulai dari

550 nm-650nm. Absorbansi tertinggi pada panjang gelombang tersebut merupakan panjang gelombang maksimum yaitu 741 nm.

Pembuatan kurva baku: Larutan stok 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700; 800; dan 900 μL , masing-masing ditambah aquadest ad 1000 μL . Kemudian ditambah reagen Lowry B 8 mL ditunggu sampai 10 menit. Reagen Lowry A ditambahkan sebanyak 1 mL dan ditunggu 10 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 741 nm (λ maks). Hasil persamaan kurva baku yang diperoleh yaitu $y = 15,136x + 0,012$ dengan $r = 0,998$.

Penetapan kadar protein: Hati yang telah dicuci dengan 0,9% NaCl ditempatkan pada 1,15% b/v KCl. Hati ditimbang sebanyak 1 gram, dipotong-potong dan dihomogenasi dalam 4 mL *phosphate buffer* 50 mM (pH 7,4). Kemudian diendapkan dengan ditambah ammonium sulfat kristal 200,0 mg dan dipisahkan dengan disentrifuge

11.000 rpm selama 10 menit. Bagian endapan ditimbang $\pm 100,0$ mg, kemudian dilarutkan dengan dapar asetat pH 5 sampai 10,0 mL. 400 μL sampel diambil dan diadkan dengan aquadest ad 1 mL, ditambah 8 mL reagen Lowry B dan dibiarkan selama 10 menit. Reagen Lowry A ditambahkan sebanyak 1 mL dan dibiarkan sampai 10 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang maksimum 741 nm.

Analisis data

Data penelitian yang berupa aktivitas enzim *xanthine oxidase* (U/mg protein) normal tetapi tidak homogen meskipun sudah ditransformasi, sehingga dianalisis dengan metode *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney* pada taraf kepercayaan 95%. Sedangkan persentase penghambatannya diuji dengan *Independent-Sample T test*. Persentase aktivitas XO dapat dihitung dalam rumus berikut :

$$\% \text{ penghambatan } xanthine = \frac{\bar{x} \text{ aktivitas aquadest} - \bar{x} \text{ aktivitas perlakuan}}{\bar{x} \text{ aktivitas aquadest}} \times 100\%$$

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hiperurisemia ditandai dengan peningkatan produksi asam urat. Pada manusia, asam urat diproduksi pada tahap akhir metabolisme purin. Enzim kunci pada metabolisme ini adalah XO. Enzim ini mengkatalisis konversi *hypoxanthine* menjadi *xanthine*, dimana kemudian dioksidasi menjadi asam urat. Penghambatan *xanthine oxidase* bisa digunakan sebagai terapi efektif pada hiperurisemia (Strazzullo and Puig, 2007).

Penelitian terhadap aktivitas XO dilakukan pada mencit putih jantan galur Swiss menggunakan ekstrak daun

tempuyung 200 mg/kgBB yang dibandingkan dengan kontrol negatif aquadest 0,5 mL/20 gramBB dan kontrol positif allopurinol 10 mg/kgBB. Aktivitas XO diukur menggunakan metode kolorimetri dengan spektrofotometer UV-Vis. Ketika pengukuran sampel, terjadi reaksi antara *xanthine* dan XO membentuk asam urat yang mengandung gugus kromofor. Dengan adanya gugus tersebut, dapat menyerap radiasi elektromagnetik pada spektrofotometer UV sehingga yang terdeteksi adalah asam urat. Kadar asam urat yang diperoleh sebanding dengan aktivitas XO.

Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar protein pada allopurinol ($p = 0,008$) lebih tinggi secara signifikan dibandingkan ekstrak air daun tempuyung ($p=0,008$) dan aquadest ($p = 0,008$). Hal ini sesuai dengan penelitian

Brunschede dan Krooth (1973) bahwa kadar protein setelah pemberian allopurinol pada sel hamster China 12,82 mg protein/mL enzim lebih besar dibandingkan pada pemberian asam urat sebesar 9,45 protein/mL enzim.

Tabel 1. Data Aktivitas XO, Kadar Protein dan % Penghambatan XO pada Aquadest, Allopurinol, dan Ekstrak Daun Tempuyung

Kelompok	Aktivitas XO U/g hati	Kadar Protein g protein/g hati	Aktivitas XO U/g protein	%Penghambatan XO
Aquadest	0,191	0,024	8,130	-
	0,200	0,025	8,035	-
	0,196	0,024	8,078	-
	0,194	0,025	7,635	-
	0,208	0,025	8,290	-
X ± SE	0,198 ± 0,007	0,025 ± 0,001	8,034 ± 0,243	-
Allopurinol	0,095	0,120	0,796	90,09
	0,101	0,123	0,823	89,75
	0,092	0,117	0,789	90,17
	0,095	0,125	0,762	90,51
	0,093	0,124	0,748	90,69
X ± SE	0,095 ± 0,004	0,122 ± 0,003*	0,784 ± 0,030*	90,24 ± 0,33
Ekstrak Daun Tempuyung	0,108	0,044	2,484	69,08
	0,084	0,032	2,617	67,43
	0,096	0,035	2,754	65,72
	0,088	0,043	2,052	74,45
	0,089	0,044	2,022	74,83
X ± SE	0,093 ± 0,010	0,040 ± 0,005*#	2,386 ± 0,297*#	70,30 ± 3,70

* Kadar protein berbeda bermakna terhadap aquadest ($p < 0,005$)

Aktivitas XO berbeda bermakna terhadap allopurinol ($p < 0,005$)

Tabel 1 menunjukkan aktivitas XO pada kelompok aquadest ($p = 0,009$) lebih tinggi dibandingkan allopurinol ($p = 0,009$) dan ekstrak daun tempuyung ($p=0,009$) secara signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa allopurinol dan ekstrak daun tempuyung dapat menghambat aktivitas XO yang berperan dalam pembentukan asam urat. Sedangkan hasil allopurinol ($p = 0,009$) lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun tempuyung ($p = 0,009$) secara signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun tempuyung mempunyai kemampuan menghambat aktivitas XO lebih kecil dibandingkan dengan allopurinol. Persentase penghambatan XO pada allopurinol sebesar $90,24\% \pm 0,33\%$ dan ekstrak daun tempuyung $70,30\% \pm 3,70\%$.

Hal ini dikarenakan ekstrak daun tempuyung belum murni sehingga masih banyak senyawa lain yang inaktif yang ikut tersari dalam ekstrak.

Xanthine oxidase merupakan salah satu enzim yang dapat dihambat oleh flavonoid (Hoorn *et al*, 2002). Penelitian Muhtadi dkk (2010), menyatakan bahwa di dalam ekstrak daun tempuyung mengandung senyawa luteolin. Penelitian lain menyebutkan bahwa tempuyung memiliki kandungan kimia senyawa flavonoid, yaitu 5,7,3',4'-tetrahidroksi flavon (luteolin), 5,7,4'-trihidroksi flavon (apigenin), luteolin, luteolin 7-O-glukosida, apigenin 7-O-glukosida (Djunaedi, dkk, 2003). Studi *in vitro* menunjukkan bahwa beberapa flavonoid seperti luteolin dan apigenin yang terdapat dalam daun tempuyung dapat bekerja sebagai

inhibisi XO (Wardani, 2008).

Penelitian ini menggunakan ekstrak daun tempuyung yang memiliki kandungan kimia yang masih cukup beragam, sehingga belum diketahui pasti senyawa yang bertanggungjawab terhadap penghambatan enzim XO pada ekstrak daun tempuyung secara *in vivo*. Senyawa yang kemungkinan mempunyai aktivitas inhibitor enzim XO adalah golongan flavonoid. Apigenin dan luteolin merupakan flavonoid golongan flavon yang mempunyai ikatan rangkap C2 dan C3. Hal ini memungkinkan terjadinya reaksi adisi yaitu ikatan rangkap pada atom C2 dan C3 akan mengakibatkan posisi ring B co-planar terhadap ring A dan ring C untuk berkonjugasi sehingga lebih memudahkan interaksi dengan XO. Selain itu, gugus hidroksil juga berperan dalam efek penghambatan (Cos *et al.*, 1998). Luteolin mempunyai gugus hidroksil pada C5 dan C7 yang esensial terhadap penghambatan aktivitas XO (Nagao *et al.*, 1999).

Penelitian yang menggunakan ekstrak herba meniran, ekstrak air daun salam dan ekstrak jinten hitam masing-masing mempunyai aktivitas penghambatan terhadap XO berturut-turut yaitu 67,54%, 23,67%, dan 51,01% (Susanti, 2012; Wahyudin, 2012 dan Rosita 2012). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun tempuyung memiliki aktivitas penghambatan lebih besar sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai antihiperurisemia.

5. SIMPULAN

Ekstrak daun tempuyung dosis 200 mg/kgBB dapat memberikan penghambatan terhadap enzim *xanthine oxidase* sebesar 70,30% \pm 3,70% pada mencit hiperurisemia. Sedangkan allopurinol dosis 10 mg/kgBB memberikan penghambatan terhadap *xanthine oxidase* sebesar 90,24% \pm 0,33%.

REFERENSI

- Brunschede, H. and Krooth, R.S., 1973, Studies on the Xanthine Oxidase Activity of Mammalian Cells, *Biochemical Genetics*, Vol.8, No.4.
- Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J.P., Cimanga, K., Poel, B.V., Pieters, L., Vlietinck, A.J. and Berghe, D.V., 1998, Structure-Activity Relationship and Classification of Flavonoids as Inhibitors of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers, *Journal of Natural Products*, Vol. 61, No. 1, 71-76.
- Djunaedi, D.D., Padmawinata, K., Soediro, I. dan Yulinah, S.D., 2003, Efek Antibatu Kandung Kemih *Orthosiphon aristatus* (Bl.)Miq., *Sonchus arvensis* L., *Phyllanthus niruri* L., dan Campurannya serta Isolasi dan Identifikasi Senyawa Dari *Sonchus arvensis* L., <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>, (diakses 19 Juni 2011).
- Ganong, F. dan William, 2003, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Hal. 284-287, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Haidari, F., Keshavarz, S.A., Rashidi, M.R. and Shahi, M.M., 2009, Orange Juice and Hesperitin Supplementation to Hyperuricemic Rats Alter Oxidative Stress Markers and Xanthine Oxidoreductase Activity, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, Vol. 45, No. 3, 285-291.
- Hoorn, V.DE., Nijveldt, R.J., Leeuwen V.P.A., Hofman, Z., M'Rabet, L., Bont, D.DV., Norren, V.K., 2002, Accurate prediction of xanthine oxidase inhibition based on the structure of flavonoids, *Eur J Pharmacol*, 451 (2), 111-8.
- Huang, C.G., Shang, Y.J., Zhang, J., Zhang, J.R., Li, W.J. and Jiao, B.H., 2008, Hypouricemic Effects of

- Phenylpropanoid Glycosides
Acteoside of *Scrophularia
ningpoensis* on Serum Uric
Acid Levels in Potassium
Oxalate-Pretreated Mice, *The
American Journal of Chinese
Medicine*, Vol. 36, No. 1, 149-157.
- Mansjoer, A., 2000, *Kapita Selekt
Kedokteran Edisi 3*, Hal. 542-544,
Media Aesculapius FKUI, Jakarta.
- Muhtadi, Sutrisna, EM.,
Wahyuningtyas, N., dan Suhendi,
A., 2010, Pengembangan Agen
Fitoterapi Asam Urat Dari Berbagai
Tumbuhan Obat Indonesia Untuk
Peningkatan Kapasitas Bahan Alam
Obat Menjadi Probuk Obat Herbal
Tradisional (OHT), *Laporan Akhir
Tahun Pertama Riset Andalan
Perguruan Tinggi dan
Industri (RAPID)*, Universitas
Muhammadiyah Surakarta,
Surakarta.
- Mutschler, E., 1991, *Dinamika Obat
Buku Ajar Farmakologi dan
Toksikologi*, Hal. 216-221, ITB,
Bandung.
- Nagao, A., Seki, M., and Kobayashi, H.,
1999, Inhibition of Xanthine
Oxidase by Flavonoids, *Biosci.
Biotechnol. Biochem.*, 63 (10),
1787-1790.
- Priyanto, 2008, *Farmakoterapi dan
Terminologi Medis*, Lembaga
Studi dan Konsultasi Farmakologi,
Jakarta.
- Rosita, I., 2012, Efek Ekstrak Jinten
Hitam (*Nigella sativa*, L) Terhadap
Aktivitas *Xanthine Oxidase* Pada
Mencit Hiperurisemia, *Skripsi*,
- Fakultas Farmasi Universitas
Muhammadiyah Surakarta,
Surakarta. Strazzullo, P. and Puig,
J.G., 2007, Uric Acid and
Oxidative stress: relative
impact on cardiovascular risk,
Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis., 17:
409-414.
- Strazzullo, P. and Puig, J.G., 2007,
Uric Acid and Oxidative stress:
relative impact on cardiovascular
risk, *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*,
17: 409-414.
- Sudjadi dan Rohman, A., 2004,
Analisis Obat dan Makanan,
Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Susanti, R., 2012, Pengaruh Ekstrak
Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*)
Terhadap Penghambatan Enzim
Xanthine Oxidase Pada Mencit
Hiperurisemia, *Skripsi*, Fakultas
Farmasi Universitas Muhammadiyah
Surakarta, Surakarta.
- Wahyudin, M. W., 2012, Aktivitas
Penghambatan *Xanthine Oxidase*
Oleh Ekstrak Air Daun Salam
(*Syzygium polyanthum*, W.) Pada
Mencit Hiperurisemia, *Skripsi*,
Fakultas Farmasi Universitas
Muhammadiyah Surakarta,
Surakarta.
- Wardani, 2008, Potensi Ekstrak
Tempuyung dan Meniran sebagai
Anti Asam Urat: Aktivitas
Inhibisinya Terhadap Xantin
Oksidase, *Skripsi*, Fakultas
Matematika dan Ilmu Pengetahuan
Alam, Institut Pertanian Bogor,
Bogor.