

**PENGARUH EKSTRAK HERBA MENIRAN (*Phyllanthus niruri*)
TERHADAP PENGHAMBATAN ENZIM XANTHINE OXIDASE
PADA MENCIT HIPERURISEMIA**

NASKAH PUBLIKASI



Oleh :

**RAMADHANI SUSANTI
K 100080017**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2012**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

Berjudul:

**PENGARUH EKSTRAK HERBA MENIRAN (*Phyllanthus niruri*)
TERHADAP PENGHAMBATAN ENZIM *XANTHINE OXIDASE*
PADA MENCIT HIPERURISEMIA**

Oleh:

RAMADHANI SUSANTI

K 100080017



Mengetahui,
Fakultas Farmasi

Universitas Muhammadiyah Surakarta

Dekan,

Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt.

1. Dr. dr. EM. Sutrisna, M.Kes
2. Arifah Sri Wahyuni, M.sc., Apt.
3. Nurcahyanti W, M.Biomed., Apt.
4. Dr. Muhtadi, M.Si

Peneliti,

Ramadhani Susanti

**PENGARUH EKSTRAK HERBA MENIRAN (*Phyllanthus niruri*)
TERHADAP PENGHAMBATAN ENZIM XANTHINE OXIDASE PADA
MENCIT HIPERURISEMIA**

**INFLUENCE OF MENIRAN (*Phyllanthus niruri*) EXTRACT HERB
TOWARD INHIBITION OF XANTHINE OXIDASE IN HYPERURICEMIA
MICE**

**Ramadhani Susanti, Nurcahyanti Wahyuningtyas, Muhtadi, EM Sutrisna
dan Andi Suhendi
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
ABSTRAK**

Herba meniran mengandung senyawa *lignan*, *phyllanthin*, *hypophyllanthin*, *phyltetralin*, *quercetin* dan *rutin* yang secara *in vitro* mampu menurunkan kadar asam urat melalui penghambatan *xanthine oxidase* (XO), namun secara *in vivo* belum diketahui efek penghambatan terhadap XO. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap penghambatan enzim XO pada mencit hiperurisemia. Ekstrak meniran diperoleh dengan menyari simplisia menggunakan metode dekokta. Penelitian ini menggunakan mencit yang dibuat hiperurisemia dengan cara menginduksi *potassium oxonate* 250 mg/kgBB secara intraperitoneal. Aquadest (0,5 mL/20gBB), allopurinol (10 mg/kgBB) dan ekstrak herba meniran (200 mg/kgBB) diberikan secara oral pada mencit selama 4 hari dan data aktivitas XO diukur menggunakan spektrofotometri UV vis pada λ 290 nm. Data aktivitas XO dianalisis dengan ANAVA satu jalan. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas XO ekstrak herba meniran sebesar $0,142 \pm 0,008$ U/gprotein dan allopurinol $0,095 \pm 0,004$ U/gprotein, lebih kecil dibanding aktivitas XO pada aquadest sebesar $0,198 \pm 0,007$ U/gprotein ($p=0,000$). Ekstrak herba meniran mempunyai efek penghambatan terhadap XO sebesar $67,54\% \pm 3,84\%$ sedangkan allopurinol $90,39\% \pm 1,86\%$.

Kata Kunci: *Phyllanthus niruri*, *xanthine oxidase*, hiperurisemia

ABSTRACT

Meniran herbs contain the lignans, phyllanthin, hypophyllanthin, phyltetralin, quercetin and rutin which in vitro reduce the levels of uric acid by inhibiting xanthine oxidase (XO), but in vivo has not known about inhibitory effect on XO yet. In the present study, we investigated the effect of meniran (Phyllanthus niruri) extract herb on the inhibition of XO enzyme in hyperuricemia mice. Meniran extract was obtained by decocta method of simplicia which it had been concentrated. Experimentally, hyperuricemia in mice was induced by intraperitoneal injection of potassium oxonate 250 mg/kgBW. Aquadest (0,5 mL/20gBW), allopurinol (10 mg/kgBW) and meniran extract herb (200 mg/kgBW) was given by oral gavage to mice for 4 days and XO activity date was measured using UV-vis spectrophotometer at 290 nm. XO activity data analyzed by one way ANOVA. The results showed that the XO activity of meniran extract herb was $0,142 \pm 0,008$ U/g protein and allopurinol was $0,095 \pm 0,004$ U/g protein, it was smaller than the XO activity of aquadest was $0,198 \pm 0,007$ U/g protein ($p=0,000$). The inhibitory effect of meniran extract herb on XO was $67,54\% \pm 3,84\%$ while the allopurinol was $90,39\% \pm 1,86\%$.

Keywords: *Phyllanthus niruri, xanthine oxidase, hyperuricemia*

PENDAHULUAN

Hiperurisemia merupakan keadaan yang menunjukkan terjadinya peningkatan kadar asam urat di atas normal, dengan nilai normal kadar asam urat dalam darah kurang dari 7 mg/dL untuk pria dan 6 mg/dL untuk wanita. Asam urat merupakan hasil akhir dari katabolisme purin. Dalam proses katabolisme purin tersebut *xanthine oxidase* (XO) mengkatalisis *xanthine* dan *hypoxanthine* menjadi asam urat (Haidari *et al.*, 2009; Putra, 2007).

XO merupakan enzim yang mengandung molybdenum dan merupakan enzim kunci dalam proses katabolisme purin. XO merupakan sumber radikal bebas. Pada fase reterfusi XO bereaksi dengan molekul oksigen sehingga melepaskan radikal bebas superoksida (Haidari *et al.*, 2009; Nijveldt *et al.*, 2001). XO dapat dianalisis dengan menggunakan beberapa metode misalnya secara manometrik, spektrofotometri, ultraviolet (penurunan *xanthine* dan hipoksantin), fluorometrik dan kolorimetrik (Fried and Fried, 1974).

Dua kelompok obat yang digunakan dalam pengobatan hiperurisemia yaitu golongan *urikosurik* dengan mekanisme kerja meningkatkan eliminasi asam urat

dan golongan *urikostatik* yang bekerja dengan mengurangi pembentukan asam urat. Allopurinol merupakan obat asam urat golongan *urikostatik* yang merupakan inhibitor kuat dari XO sehingga dapat menurunkan kadar asam urat. Allopurinol bekerja secara kompetitif dalam menghambat XO (Mutschler, 1991). Allopurinol memiliki efek samping seperti hepatitis, nefropati dan alergi sehingga perlu adanya pencarian inhibitor XO yang baru dari sumber alam sebagai pengganti alternatif dari allopurinol (Haidari *et al.*, 2009). Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai pengganti alternatif dari allopurinol adalah meniran (*Phyllanthus niruri*).

Meniran (*Phyllanthus niruri*) telah digunakan secara empiris untuk pengobatan asam urat. Penelitian Muhtadi dkk (2010) menyatakan bahwa ekstrak air herba meniran dengan dosis 200 mg/kgBB mampu menurunkan kadar asam urat dalam darah sebesar 61,94%. Secara *in vitro* menunjukkan fraksi air meniran mampu menghambat XO sebesar 90,43% (Subarnas, 2004), sedangkan ekstrak air 45,86% (150 ppm) dan flavonoid 53,71% (150 ppm) (Wardani, 2008). Ekstrak metanol meniran secara *in vitro* memiliki efek penghambatan XO dengan nilai IC_{50} 39,39 μ g/mL dan diduga senyawa yang bertanggung jawab adalah *lignan*, *phyllanthin*, *hypophyllanthin*, dan *phylltetralin* (Murugaiyah and Chan, 2009). Selain itu meniran mengandung senyawa flavonoid diantaranya *quercetin* dan *rutin* yang mampu memberikan penghambatan terhadap XO dengan nilai IC_{50} >100 μ M dan 52,2 μ M (Cos *et al* 1998).

Aktivitas penghambatan XO ekstrak meniran secara *in vitro* mungkin tidak mencerminkan aktivitas XO jika dilakukan secara *in vivo* hal ini dikarenakan secara *in vivo* dipengaruhi oleh bioaktivitas enzim yang terdistribusi dalam tubuh hewan uji (Mo, 2007). Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai meniran jika dilakukan secara *in vivo* terhadap aktivitas XO. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas penghambatan enzim XO oleh ekstrak air herba meniran (*Phyllanthus niruri*) secara *in vivo* yang bermanfaat terhadap pengobatan hiperurisemia.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian acak lengkap pola searah.

Alat : S spuit injeksi volume 1 mL (*Terumo*), spuit oral ukuran 18 *gauge*, flakon, timbangan mencit kapasitas 2610 g (*Lark, cina*), timbangan analitik (*Presica A-SCS*), sentrifuge (*Mini Spin*), vortex, homogenizer (*Ultra Turax*), mikropipet ukuran 5-40 μL ; 200-1000 μL , kuvet, cawan porselin, alat-alat gelas (*Pyrex*), alat bedah, sonifikator, vortek, dan spektrofotometri UV-vis (*Shimadzu 1240*).

Bahan : Ekstrak herba meniran (CV. Almanar), *phosphate buffer* (pH 7,4), EDTA, HCl 0,58 M, NaCl 0,9% p.a, KCl p.a, NaOH 0,4 N p.a, tembaga (II) sulfat 1% p.a, natrium tatarat 2% p.a, asam fosfotungstat-asam fosfomolibdat p.a, natrium karbonat 2% p.a, ammonium sulfat p.a, natrium hidroksida 0,1 N p.a, aquadest, alkohol 70%, dapar asetat (pH 5), pellet, *potassium oxonate* p.a (Aldrich Chemical company), allopurinol p.a (sigma), Aqua p.i, *xanthine*, *xanthine oxidase*, hewan uji mencit *galur Swiss* yang diperoleh dari peternakan mister tiput.

Jalan Penelitian

Penentuan dosis

1. Dosis allopurinol yang digunakan adalah 10 mg/kgBB (Muhtadi dkk, 2010).
2. Dosis *Potassium oxonate* yang digunakan adalah 250 mg/kgBB (Haidari *et al.*, 2009).
3. Dosis ekstrak air herba meniran yang diberikan pada hewan uji dalam penelitian adalah 200 mg/kgBB (Muhtadi dkk, 2010).

Pembuatan ekstrak air herba meniran

Ekstrak herba meniran diperoleh dari CV. Almanar Yogyakarta, yang tersari dari simplisia dengan metode dekokta.

Pengkondisian hewan uji

Mencit jantan galur *Swiss* diadaptasikan terlebih dahulu pada lingkungan penelitian selama satu minggu pada suhu kandang. Hewan uji tidak diberi makan 1 jam sebelum pemberian sediaan uji (Haidari *et al.*, 2009).

Pembuatan hiperurisemia

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

Perlakuan pada hewan uji

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

1. Kontrol negatif : Aquadest p.o 0,5 mL/20gBB.
2. Kontrol positif : Allopurinol p.o 10 mg/kgBB.
3. Kelompok perlakuan : Ekstrak air herba meniran p.o 200 mg/kgBB.

Pengambilan sampel

Pada hari ke 4 mencit dibunuh dengan cara dislokasi pada pukul 09.00 kemudian diambil hatinya. Seluruh tahapan preparasi sampel dilakukan pada suhu dingin. Hati dicuci dengan 0,9% NaCl kemudian ditimbang sebanyak 1 g dan ditempatkan pada 1,15% ^{b/v} KCl. Hati sebanyak 1 g dihomogenasi dalam 4 mL *phosphate buffer* 50 mM (pH 7,4). Homogenat disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan disentrifuge kembali dengan kecepatan 15000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Supernatan selanjutnya digunakan untuk uji enzim *xanthine oxidase* (Haidari *et al.*, 2009).

Penetapan aktivitas *xanthine oxidase*

100 μ L supernatan ditambah 1mL *xanthine* 50 μ M dan buffer fosfat pH 7,4 ad 5 mL. Sampel diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37 $^{\circ}$ C, kemudian ditambah HCL 6 N. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 290 nm. 1 Unit aktivitas XO akan mengkonversi 1 μ mol XO menjadi asam urat.

Pembuatan kurva baku *xanthine oxidase*

Konsentrasi larutan stok : 0,1 Unit/mL

Pembuatan kurva baku : Seri konsentrasi dari larutan stok 10; 20; 30; 40; 50; 60; 70; 80; 90 μ L. Masing-masing seri konsentrasi ditambah 1mL *xanthine* 50 μ M dan buffer fosfat pH 7,4 ad 5 mL. Sampel selanjutnya diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37 $^{\circ}$ C, kemudian ditambah HCL 6 N. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 290 nm. Hasil pembuatan kurva baku tersebut diperoleh persamaan linier *xanthine oxidase* $y = 720,9 x - 0,021$ ($r = 0,997$).

Penetapan kadar protein

Pembuatan larutan stok : Bovin serum albumin sebanyak 5 mg dilarutkan dengan aquadest ad 10 mL.

Penentuan operating time (OT) : Larutan stok sebanyak 500 μ L ditambahkan kedalam aquadest 500 μ L, selanjutnya ditambah reagen Lowry B 8 mL ditunggu sampai 10 menit setelah itu ditambah reagen Lowry A 1 mL. Diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV Vis setiap 1 menit. Waktu OT yang diperoleh adalah 20 menit.

Penentuan panjang gelombang : Larutan stok sebanyak 500 μ L ditambahkan kedalam aquadest 500 μ L. Selanjutnya ditambah reagen Lowry B 8 mL ditunggu sampai 10 menit. Ditambah reagen Lowry A 1 mL ditunggu 8 menit. Absorbansi diukur dengan spektrofotometri UV Vis mulai dari panjang gelombang 600 nm-800 nm. Hasil penetapan panjang gelombang diperoleh λ_{max} 741nm.

Pembuatan kurva baku : Seri konsentrasi larutan stok 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700; 800; 900 μ L, masing-masing konsentrasi tersebut ditambah aquadest sampai 1000 μ L. Kemudian ditambah reagen Lowry B 8 mL ditunggu

sampai 10 menit dan setelah itu ditambah reagen lowry A 1 mL ditunggu 8 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 741nm. Hasil pembuatan kurva baku diperoleh persamaan linier kurva standar protein $y = 15,136 x + 0,012$ ($r = 0,998$)

Preparasi hati dan penetapan kadar protein : Hati dicuci dengan 0,9% NaCl dan ditempatkan pada 1,15% ^{b/v} KCl, kemudian ditimbang sebanyak 1 g setelah itu hati dipotong- potong dan selama preparasi suhu dijaga tetap pada suhu dingin (4°C). Hati dihomogenasi dalam 4 mL phosphate buffer 50 mM (pH 7,4) dan diendapkan dengan ditambah amonium sulfat kristal sampai jenuh. Dipisahkan dengan disentrifuge 11.000 rpm selama 10 menit. Bagian endapan diambil 100 mg, kemudian dilarutkan dengan dapar asetat pH 5 sampai 10,0 mL. 100 μ L dari larutan sampel tersebut ditambah 8 mL reagen lowry B dan dibiarkan selama 10 menit setelah itu ditambah 1 mL reagen lowry A dan dibiarkan sampai OT yaitu 20 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 741nm.

Analisis data

Data yang diperoleh dari penelitian berupa aktivitas *xanthine oxidase* diuji statistik dengan ANAVA satu jalan pada taraf kepercayaan 95%. Dari data aktivitas XO tersebut dihitung prosentase penghambatan XO dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ penghambatan XO} = \frac{\text{Rata-rata kontrol negatif} - \text{Perlakuan}}{\text{Rata-rata kontrol negatif}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji Ekstrak Herba Meniran

Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) merupakan sediaan uji yang digunakan untuk melihat penurunan kadar asam urat melalui mekanisme penghambatan XO. Senyawa kimia yang terkandung dalam meniran antara lain *lignan*, *phyllanthin*, *hypophyllanthin*, dan *phyltetralin*, *quercetin*, *acetacetin*, *epicatechin*, *rutin* (Cos et al., 1998; Murugaiyah and Chan, 2009). Penelitian penghambatan XO dilakukan secara *in vivo* menggunakan mencit jantan galur Swiss yang memiliki enzim urikase yang dapat memecah asam urat menjadi bentuk akhir yaitu allantoin

(Starvic and Nera, 1978). Aktivitas XO dianalisis menggunakan spektrofotometri UV. Saat pengukuran sampel terjadi reaksi antara *xanthine* dan XO membentuk asam urat sehingga senyawa yang terdeteksi oleh spektrofotometri UV adalah asam urat. Di dalam asam urat tersebut mengandung gugus kromofor seperti C=O sehingga dapat menyerap radiasi elektromagnetik. Besarnya kadar asam urat yang diperoleh sebanding dengan aktivitas XO.

Tabel 1. Efek Aquades, Allopurinol dan Ekstrak Herba Meniran terhadap Aktivitas XO dan Protein Dalam Hati

Perlakuan	Aktivitas XO U/ g Hati	Aktivitas XO (Unit/g protein)	Kadar Protein g protein/ g Hati	% Penghambatan
Aquades	0.191	8.130	0,024	-
	0.200	8.035	0,025	-
	0.196	8.078	0,024	-
	0.194	7.635	0,025	-
	0.208	8.290	0,025	-
$\bar{x} \pm SE$	0,198±0,007	8,02±0,24	0,025±0,0005	-
Allopurinol*	0.095	0.796	0,120	90,09
	0.101	0.823	0,123	89,75
	0.092	0.789	0,117	90,17
	0.095	0.762	0,125	90,51
	0.093	0.748	0,124	90,69
$\bar{x} \pm SE$	0,095±0,004	0,78±0,03	0,122±0,003	90,39±1,86
Ekstrak Meniran**	0.145	2.704	0,054	66,34
	0.152	2.922	0,052	63,62
	0.131	2.072	0,063	74,21
	0.145	2.875	0,050	64,21
	0.138	2.512	0,055	68,74
$\bar{x} \pm SE$	0,142±0,008	2,62±0,43	0,055±0,004	67,54±3,84

*Aktivitas XO berbeda bermakna terhadap aquades(p=0.000)

** Aktivitas XO berbeda bermakna terhadap aquades (p=0.000) dan allopurinol (p=0.000)

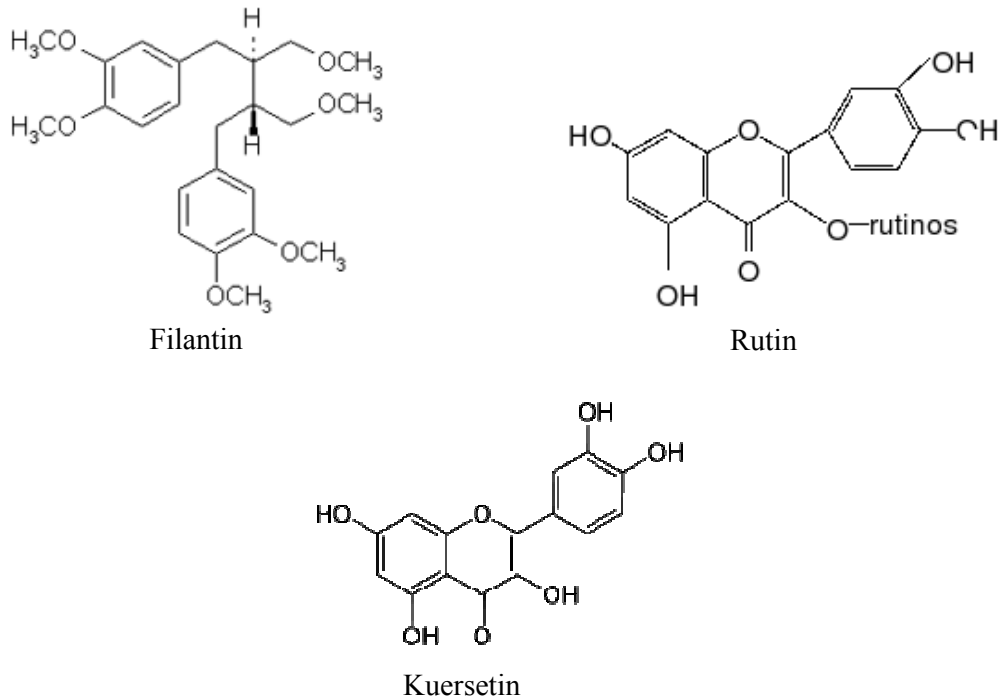
Tabel 1 menunjukkan bahwa allopurinol secara signifikan mampu menurunkan aktivitas XO dibandingkan dengan aquadest (p = 0,000) dan memiliki efek penghambatan terhadap XO sebesar 90,39% ± 1,86%. Sedangkan ekstrak air herba meniran menunjukkan secara signifikan mampu menurunkan aktivitas XO dibandingkan aquadest (p = 0,000) namun penurunannya tidak sebesar allopurinol (p = 0,000). Ekstrak herba meniran mampu menghambat XO sebesar 67,54% ± 3,84%.

Allopurinol bekerja secara kompetitif dalam menghambat XO. Allopurinol memiliki struktur yang mirip dengan *xanthine*. Allopurinol akan berikatan dengan enzim XO pada sisi aktifnya membentuk ikatan yang terdiri dari kombinasi ikatan kovalen, elektrostatik, dan ikatan hidrogen. XO akan membentuk afinitas lebih kuat terhadap Allopurinol dibandingkan *xanthine*. Ketika allopurinol berada bersama-sama dengan *xanthine*, maka allopurinol akan lebih berinteraksi dengan XO dibandingkan dengan *xanthine*, sehingga efek penghambatan allopurinol terhadap XO sangat besar (Mutschler, 1991; Voet and Voet, 2001).

Ekstrak herba meniran mampu menghambat aktivitas XO sebesar $67,54\% \pm 3,84\%$. Diduga senyawa yang terkandung dalam ekstrak herba meniran dan bertanggung jawab terhadap aktivitas penghambatan XO adalah filantin, kuersetin dan rutin. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa filantin merupakan senyawa yang tersari dalam ekstrak air meniran (Muhtadi dkk, 2010) dan pada penelitian Shimoi *et al* (2003) menyatakan kuersetin dan rutin merupakan jenis flavonoid yang larut dalam air.

Filantin merupakan golongan lignin yang diduga memiliki aktifitas dalam menghambat XO dengan nilai IC_{50} $39,39 \mu\text{g}/\text{mL}$ tetapi belum diketahui bagaimana mekanisme kerja dari lignin dalam menghambat XO (Murugiyah *et al*, 2009). Flavonoid memiliki tiga cincin benzen dengan kombinasi gugus hidroksil, gula, oksigen dan metil yang menyebabkan aktivitasnya berbeda-beda. Kuersetin dan rutin mampu menghambat XO dengan nilai IC_{50} kuersetin $2,62 \mu\text{M}$ dan rutin $52,2 \mu\text{M}$. Adanya ikatan rangkap pada flavonoid jenis flavonol seperti kuersetin dan rutin memungkinkan terjadi reaksi adisi (oksidasi oleh XO) pada ikatan rangkap atom C2 dengan C3 sehingga mengakibatkan posisi cincin B co-planar terhadap cincin A. Hal ini menyebabkan . Gugus hidroksil C5 dan C7 essential pada kerangka kuersetin dan rutin dapat berinteraksi dengan gugus aktif dari XO sehingga memberikan efek penghambatan, hal tersebut menunjukkan adanya hubungan kemampuan penghambat XO dengan gugus hidroksil. Selain itu dengan adanya substitusi gugus hidroksil C3' dan C4' pada cincin B mampu berinteraksi dengan target protein yang berperan sebagai perantara penghambatan XO secara langsung (Cos *et al.*, 1998). Kuersetin dan rutin merupakan flavonoid golongan

flavonol yang mampu menghambat XO melalui mekanisme kompetitif (Nagao *et al* 1999), hal ini menunjukkan bahwa kuersetin, rutin dan allopurinol mempunyai mekanisme yang sama dalam menghambat XO yaitu melalui mekanisme kompetitif. Rumus kimia filantin, kuersetin dan rutin tersaji dalam Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kimia Filantin, Rutin dan Kuersetin

Penelitian ekstrak air daun tempuyung, ekstrak air jinten hitam dan ekstrak air daun salam memiliki persen penghambatan terhadap XO sebesar 70,30%, 51,01% dan 23,67 % (Frastyowati, 2012; Rosita, 2012; Wahyudin, 2012). Data tersebut menunjukkan bahwa ekstrak meniran memiliki persentase penghambatan lebih kecil dibandingkan ekstrak air daun tempuyung tetapi memiliki efek penghambatan lebih besar dibandingkan dengan *orange juice*, jinten hitam dan daun salam sehingga ekstrak herba meniran berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai antihiperurisemia.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Ekstrak herba meniran dosis 200 mg/kgBB dapat memberikan penghambatan terhadap *xanthine oxidase* sebesar 67,54 % pada mencit hiperurisemia.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap isolasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak air herba meniran (*Phyllanthus niruri*) yang bertanggung jawab terhadap aktivitas penghambatan *xanthine oxidase*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada ibu Nurcahyanti Wahyuningtyas, M.Biomed., Apt., Dr. Muhtadi, M.Si selaku pembimbing dan seluruh tim RAPID sebagai penyandang dana penelitian.

DAFTAR ACUAN

- Cos, P., Li, Y., Mario, C., Jia, P.H., Kanyanga, C., Bart, V.P., Luc, P., Arnold, J., Vlietinck, and Dirk, V.B., 1997, Structure-Activity Relationship and Classification of Flavonoids as Inhibitors of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers, *J. Nat. Prod.*, Vol. 61, No. 1, 71-76.
- Frastyowati, H., 2012, Penghambatan *Xanthine Oxidase* Oleh Ekstrak Air Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis*) Pada Mencit Hiperurisemia, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Haidari, F., Keshavarz, S.A., Rashidi, M.R., and Shahi, M.M., 2009, Orange Juice and Hesperetin Supplementation to Hyperuricemia Rats Alter Oxidative Stress Marker and Xanthine Oxidoreduktase Activity, *J. Clin Biochem, Nurt*, Vol. 45, No.3, 285-219
- John wiley and Sons.,2001, The Colorimetric Detection and Quantitation of Total Protein, *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, B1.1.1-B1.1.28
- Muhtadi, Sutrisna, E., 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.

Murugaiyah, V., and Chan, K.L., 2009, Mechanisms of Antihyperuricemic Effect of Phyllanthus Niruri and its Lignan Constituents, *J. Ethnopharmacol*, 124(2):233-9.

Mutschler, E., 1991, *Dinamika Obat*, Edisi 5, 217- 221, Alih Bahasa oleh Mathilda, B., Widiyanto., dan Ana S., Penerbit ITB, Bandung.

Nagao A, Seki, Kobaya SM. 1999. Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Biosci.biotechnol.biochem* 63: 1787-1790

Nijveldt, R.J.,Els, V.N., Danny, E.C., Petra, G.B., Klaske, V.N., and Paul, A.M., 2001, Flavonoid review of probable mechanism of action and potential application, *Am J.Clin Nutr*, 7(4).

Rosita, I., 2012, Efek Ekstrak Air Jintan Hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap aktivitas *Xanthine Oxidase* Pada Mencit Hiperurisemia, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
Rosita, I., 2012, Efek Ekstrak Air Jintan Hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap aktivitas *Xanthine Oxidase* Pada Mencit Hiperurisemia, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Starvic, B. and Nera, E.A., 1978, *Use of the Uricase Inhibited Rat as Animal Model In Toxicology*, *Clintoxicol*, 13 (1) : 47-74.

Sudjadi dan Rohman, A., 2004, *Analisis Obat dan Makanan*, Pustaka pelajar, yogyakarta.

Wardani, C., 2008, Potensi Ekstrak Tempuyung dan Meniran Sebagai Antiasam Urat: Aktivitas Inhibisinya Terhadap *Xanthine Oxidase*, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, ITB.

Wahyudin,M.W., 2012, Aktivitas Penghambatan Enzim *Xanthine Oxidase* oleh Ekstrak Air Daun Salam (*Zyzygium polyanthum W.*) Pada Mencit Yang Diinduksi Kalium Oksonat, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.