

Various Parts of Melinjo (Gnetum gnemon) as Uric Acid Inducer in Rattus norvegicus

Berbagai Bagian Melinjo (*Gnetum gnemon*) sebagai Induser Asam Urat pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Palupi Fatma Ningtyas¹, Sri Tasminatun²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY, ²Bagian Farmakologi FKIK UMY

Abstract

Development of new medicine requires preclinical trials. Laboratory animal with hyperuricaemia conditions needed for testing uric acid-lowering medicine substance. Melinjo (Gnetum gnemon) is known to have high levels of purines that can raise uric acid levels. This study was conducted to determine the effect of various parts of melinjo (Gnetum gnemon) against uric acid levels in rats (Rattus norvegicus).

This is experimental study, pretest and posttest control group design. A total of 20 male rats (Rattus norvegicus) were randomized into 4 groups: control group, leaves group, rind group and seed group. Juice of melinjo leaves (9.3 gram/kg BW), rind (10 gram/kg BW) and seed (13 gram/kg BW) were given for 18 days in each group. Uric acid levels examination was done periodically before treatment (day 0), day 6, day 11 and day 18. Uric acid levels data were analyzed using Paired Sample T-Test and One Way ANOVA.

The results of Paired Sample T-Test analysis on each group by comparing uric acid levels before treatment (day 0) with uric acid levels on day 6, day 11 and day 18 showed no significant difference in the control group, leaves group and rind group. The increase of uric acid levels were significantly found in seeds group at day 11 ($p = 0.029$). However, this increment cannot be categorized as a hyperuricemia condition. One Way ANOVA analysis results by comparing the uric acid levels between groups at the periodically examination showed no significant difference between uric acid levels of groups at day 0, day 6, day 11, and day 18. Juice of melinjo (Gnetum gnemon) leaves (9.3 gram/kg BW), rind (10 gram/kg BW) and seed (13 gram/kg BW) given orally for 18 days cannot make hyperuricemia condition in rats (Rattus norvegicus) so it cannot be used as inducers of uric acid.

Keywords: Gnetum gnemon, leaves, rind, seed, uric acid

Abstrak

Pengembangan obat baru memerlukan uji pra-klinik. Pengujian bahan obat untuk menurunkan asam urat membutuhkan hewan uji dengan kondisi hiperurisemia. Melinjo (*Gnetum gnemon*) diketahui mempunyai kadar purin tinggi yang dapat menaikkan kadar asam urat. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh berbagai bagian melinjo (*Gnetum gnemon*) terhadap kadar asam urat tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, pre test and post test control group design. Sebanyak 20 ekor tikus jantan dibagi secara acak menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok daun, kelompok kulit buah, dan kelompok biji. Perasan daun (9,3 gram/kg BB), kulit buah (10 gram/kg BB) dan biji (13 gram/kg BB) melinjo diberikan selama 18 hari pada masing-masing kelompok. Pemeriksaan kadar asam urat dilakukan secara berkala (series) sebelum perlakuan (hari ke-0), hari ke-6, hari ke-11 dan hari ke-18. Data kadar asam urat dianalisis menggunakan metode Paired Sample T-Test dan One Way ANOVA.

Hasil analisis dengan Paired Sample T-Test pada tiap kelompok dengan membandingkan kadar asam urat sebelum perlakuan (hari ke-0) dengan kadar asam urat pada hari-6, hari-11, hari-18 menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok kontrol, daun, dan kulit buah. Kenaikan kadar asam urat yang bermakna dijumpai pada kelompok biji pada hari ke-11 ($p=0,029$). Namun kenaikan tersebut belum dapat dikategorikan

sebagai kondisi hiperurisemia. Hasil analisis One Way ANOVA untuk membandingkan kadar asam urat antar kelompok pada setiap kali pemeriksaan menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna kadar asam urat antar kelompok pada hari ke-0, ke-6, ke-11, maupun ke-18. Pemberian perasan daun (9,3 gram/kg BB), kulit buah (10 gram/kg BB) dan biji (13 gram/kg BB) melinjo (*Gnetum gnemon*) selama 18 hari, tidak dapat membuat kondisi hiperurisemia pada tikus putih sehingga tidak dapat dijadikan sebagai inducer asam urat.

Kata kunci : asam urat, biji, daun, *Gnetum gnemon*, kulit buah

Pendahuluan

Masalah kesehatan yang dihadapi bangsa Indonesia adalah masih tingginya penyakit infeksi dan meningkatnya penyakit degeneratif. Penyakit degeneratif umumnya terjadi pada usia lanjut/lansia seiring kemunduran fungsi sel tubuh¹. Keluhan kesehatan lansia yang paling tinggi adalah keluhan yang merupakan efek dari penyakit kronis seperti asam urat, darah tinggi, rematik, darah rendah dan diabetes (32,99%)².

Asam urat merupakan produk akhir yang terbentuk dari senyawa purin (adenine, guanine) yang dihasilkan dalam jaringan yang mengandung enzim xantin oksidase terutama di hati dan usus halus³. Produksi asam urat yang berlebihan, berkurangnya eksresi asam urat, atau kombinasi keduanya dapat menyebabkan kenaikan kadar asam urat dalam darah yang disebut hiperurisemia⁴. Hiperurisemia didefinisikan sebagai kadar asam urat serum lebih dari 7 mg/dL pada laki-laki dan lebih dari 6 mg/dL pada wanita. Hiperurisemia menimbulkan hipersaturasi asam urat yang merangsang terbentuknya timbunan urat dalam bentuk garam terutama monosodium urat. Timbunan monosodium urat ini yang menyebabkan penyakit gout⁵.

Walaupun pengobatan yang efektif tersedia untuk mengeliminasi kristal sodium urat, pengelolaan gout masih suboptimal⁶. Maka perlu eksplorasi lebih lanjut tentang pengobatan asam urat, seperti pengembangan

obat-obat baru untuk mengatasi kenaikan asam urat. Pengembangan bahan obat dilakukan melalui serangkaian uji, seperti uji praklinik dan klinik. Uji praklinik dilakukan menggunakan hewan uji untuk menilai efek farmakologi, profil farmakokinetik dan toksisitas calon obat⁷.

Untuk mengevaluasi agen terapi dalam gangguan tertentu yang berhubungan dengan asam urat atau menentukan faktor-faktor yang mempengaruhi urat serum, digunakan hewan uji dengan kondisi hiperurisemia⁸. Kondisi hiperurisemia dapat dicapai dengan induksi kalium oksonat. Efek puncak kalium oksonat adalah 2 jam setelah pemberian, setelahnya terjadi penurunan level asam urat serum sampai normal kembali dalam waktu 8 jam⁹. Selain kalium oksonat, makanan tinggi purin juga digunakan untuk menaikkan kadar asam urat serum tikus. Melinjo (*Gnetum gnemon*) diketahui mempunyai kadar purin tinggi yang dapat menaikkan kadar asam urat. Kadar purin pada daun melinjo adalah 366 mg/100 gram, buah melinjo 233 mg/100 gram dan biji melinjo 50-150 mg/100 gram¹⁰.

Bahan dan Cara

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, *pre test and post test control group design*. Pengelompokan dilakukan secara acak (*random*) dan pengukuran dilakukan berkala (*series*).

Subyek penelitian ini adalah 20 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley umur 2-3 bulan dengan berat badan 200-300 gram. Sebanyak 20 ekor tikus jantan dibagi secara acak (*random*) menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok daun, kelompok kulit buah, dan kelompok biji melinjo.

Bahan yang digunakan adalah aquades, perasan daun muda, kulit buah, dan kulit buah melinjo (*Gnetum gnemon*), dan sampel darah tikus. Sedangkan alat-alat yang digunakan terdiri dari: mortir, stamper, blender, saringan, timbangan hewan uji, sonde mulut, spektrofotometer dan kuvet, pipet, *eppendorf*, kandang pemeliharaan, neraca analitik, jarum, sentrifugator, dan gelas beker.

Berbagai bagian melinjo (*Gnetum gnemon*) dipanen pada bulan Oktober – November dari Gayam Puluhan Trucuk Klaten Jawa Tengah. Bagian melinjo yang digunakan adalah daun muda, kulit buah dan biji. Daun muda *Gnetum gnemon* adalah daun *Gnetum gnemon* yang berwarna hijau muda dan mempunyai lebar daun kurang dari atau sama dengan 10 cm¹¹. Kulit buah *Gnetum gnemon* yang digunakan adalah kulit buah *Gnetum gnemon* yang telah masak, berwarna oranye kemerahan. Biji *Gnetum gnemon* dipisahkan dari selubung bijinya yang berwarna coklat sehingga didapatkan biji berwarna putih.

Daun, kulit dan biji *Gnetum gnemon* masing-masing sebanyak 50 gram dikumpulkan dan dibersihkan untuk menghindari adanya kontaminasi. Daun dan kulit buah direbus dalam air mendidih selama 5 menit, sedang biji selama 10 menit kemudian ditiriskan. Daun dan kulit buah dipotong menjadi beberapa bagian lebih kecil selanjutnya dihaluskan dengan mortir dan

stample sedangkan biji dihaluskan dengan blender, masing-masing ditambahkan air rebusan. Daun, kulit buah dan biji yang telah halus disaring dan diperas sehingga didapatkan volume maksimal perasan daun 70 ml, kulit buah 65 ml dan biji 50 ml. Perasan dibuat setiap 2-3 hari sekali. Dilakukan uji stabilitas, selama 3 hari disimpan di dalam lemari pendingin tidak didapatkan perubahan warna, bau atau kekentalan pada perasan.

Perasan daun, kulit buah dan biji melinjo (*Gnetum gnemon*) diberikan secara peroral menggunakan sonde sebanyak 3 ml pada masing-masing tikus setiap kali pemberian selama 18 hari berturut-turut. Dengan menghitung volume maksimal perasan, volume pemberian perasan dan rata-rata berat badan tikus diperoleh dosis perasan yang diberikan adalah: dosis daun 9,3 gram/kg BB, dosis kulit buah 10 gram/kgBB, dan dosis biji melinjo 13 gram/kg BB.

Dilakukan pengambilan darah dan pemeriksaan kadar asam urat secara berkala (*series*), pada hari ke-0 untuk melihat kadar awal sebelum perlakuan, hari ke-6, hari ke-11 dan hari ke-18. Darah diambil dari vena plexus orbitalis dengan pipet kapiler hematokrit sebanyak 2 ml¹². Pemeriksaan kadar asam urat dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada. Dilakukan pengambilan serum/plasma dengan cara sentrifugasi *whole blood* kecepatan 4000 rpm selama 10 menit atau 12.000 rpm selama 2 menit. Serum yang terpisah diambil dan dipindahkan ke tabung baru untuk ditentukan kadar asam uratnya. Kadar asam urat ditetapkan berdasarkan reaksi enzimatis menggunakan reagen *uric acid*. Serum dan reagen dicampur dengan vortex-mixer dan diinkubasi selama 20 menit pada

suhu 20-25°C atau 10 menit pada suhu 37°C. Pembacaan dilakukan menggunakan MICROLAB 300. Data dianalisis menggunakan metode *Paired Sample T-Test* dan *One Way ANOVA*.

Hasil Penelitian

Kadar asam urat darah masing-masing kelompok sebelum perlakuan (hari ke-0), hari ke-6 perlakuan, hari ke-11 perlakuan, dan hari ke-18 perlakuan ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar Asam Urat Darah (mg/dL)

Kelompok	Kadar Asam Urat Darah (Mean ± SE)			
	Sebelum perlakuan (H-0)	H-6	H-11	H-18
Kontrol	0,75 ± 0,08	0,72 ± 0,07	0,78 ± 0,09	0,62 ± 0,03
Perasan Daun	0,73 ± 0,03	0,84 ± 0,10	0,74 ± 0,06	0,56 ± 0,11
Perasan Kulit Buah	0,77 ± 0,14	0,63 ± 0,04	0,60 ± 0,07	0,62 ± 0,06
Perasan Biji	0,61 ± 0,04	0,67 ± 0,06	0,92 ± 0,12	0,59 ± 0,04

Hasil dianalisis menggunakan *Paired Sample T-Test* pada masing-masing kelompok dengan membandingkan kadar asam urat sebelum perlakuan (hari ke-0) dengan kadar asam urat pada hari-6, hari-11, hari-18. Hasil kadar asam urat pada kelompok kontrol tidak didapatkan perbedaan yang bermakna pada hari ke-6 ($p=0,48$), hari ke-11 ($p=0,636$), maupun hari ke-18 ($p=0,070$). Pada kelompok daun tidak didapatkan pula perbedaan yang bermakna pada hari ke-6 ($p=0,230$), hari ke-11 ($p=0,878$), maupun hari ke-18 ($p=0,110$). Pada kelompok kulit buah juga tidak didapatkan perbedaan yang bermakna pada hari ke-6 ($p=0,279$), hari ke-11 ($p=0,109$), maupun hari ke-18 ($p=0,148$). Pada kelompok biji perbedaan bermakna kadar asam urat didapatkan pada hari ke-11 ($p=0,029$) sedangkan pada hari ke-6 ($0,184$) dan hari ke-18 ($p=0,379$) tidak didapatkan perbedaan yang bermakna.

Hasil dianalisis pula menggunakan *One Way ANOVA* untuk membandingkan kadar asam urat antar kelompok yakni kelompok kontrol, kelompok daun, kelompok kulit buah dan kelompok biji pada setiap kali pemeriksaan: hari ke-0, ke-6, ke-11 dan ke-18. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna kadar asam urat antar kelompok pada hari ke-0 ($p=0,606$), hari ke-6 ($p=0,247$), hari ke-11 ($p=0,143$) maupun hari ke-18 ($p=0,930$).

Diskusi

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil yakni pemberian bagian-bagian melinjo (*Gnetum gnemon*) tidak menunjukkan hasil yang bermakna dalam menaikkan kadar asam urat tikus. Dalam 18 hari pemberian perasan daun, kulit buah dan biji melinjo, tidak dapat membuat kondisi tikus hiperurisemia. Hiperurisemia sendiri adalah keadaan dimana kadar asam urat darah tikus putih mencapai 1,7-3,0 mg/dL¹³.

Asam urat dibentuk dari degenerasi purin baik secara eksogen maupun endogen. Pembentukan purin melalui metabolisme DNA dan RNA merupakan pembentukan secara endogen sedangkan jalur eksogen melalui intake diet tinggi purin¹⁴. Purin yang terbentuk akan diubah menjadi hipoxantin. Oleh enzim xantin oksidase, hipoxantin diubah menjadi xantin untuk selanjutnya teroksidasi menjadi asam urat³.

Bahan makanan sumber purin tinggi adalah bahan makanan yang mengandung 150-1000 mg purin dalam 100 gram bahan makanan¹⁵. Salah satu diet tinggi purin adalah melinjo (*Gnetum gnemon*). Kadar purin pada daun melinjo adalah 366 mg/100 gram, buah melinjo 233 mg/100 gram dan biji melinjo 50-150 mg/100 gram¹⁰, yang berarti berbagai

bagian melinjo (*Gnetum gnemon*) termasuk dalam kriteria bahan makanan dengan sumber purin tinggi.

Pada penelitian ini dosis yang diberikan pada hewan uji, apabila dikoversikan pada manusia, setara dengan konsumsi purin sebanyak 145,6 – 381,23 mg/hari. Asupan tinggi purin adalah konsumsi purin >1000 mg/hari¹⁶. Hal ini berarti asupan purin pada penelitian ini tidak termasuk dalam kategori tinggi purin. Sementara dosis tersebut adalah dosis maksimal dalam perasan berbagai bagian melinjo yang dapat diberikan pada hewan uji.

Wahyuningsih *et al.* (2015)¹⁷ dalam penelitiannya menggunakan melinjo untuk membuat kondisi hiperurisemia. Melinjo yang diberikan berupa serbuk biji melinjo sebanyak 10% yang dicampurkan ke dalam pakan tikus. Disamping menggunakan *Gnetum gnemon*, tikus diinduksi pula menggunakan kalium oksonat satu jam sebelum dilakukan pemberian bahan uji. Asam urat diperiksa 3 kali sehari, yakni pada menit ke-0, ke-30 dan ke-60 per hari pada hari pengujian yang telah ditentukan. Didapatkan bahwa kadar asam urat dalam serum darah tikus berubah-ubah setiap kali pengujian. Ini menunjukkan bahwa kadar asam urat dalam serum darah tikus fluktuatif. Menurut Batubara (2012)¹⁸ rata-rata konsumsi pakan tikus per hari adalah 17,33 gram. Dengan rata-rata konsumsi pakan tikus sebanyak 17,33 gram tersebut, maka kisaran dosis serbuk biji melinjo yang dikonsumsi tikus pada penelitian Wahyuningsih adalah 1,73 gram. Sementara pada penelitian ini digunakan berbagai bagian melinjo dengan dosis yang lebih besar yakni daun 2,14 gram/tikus, kulit buah 2,31 gram/tikus dan biji 3 gram/tikus. Berbagai bagian melinjo

diberikan secara tunggal tanpa bahan induser lain.

Beberapa kandungan bioaktif yang terkandung pada melinjo (*Gnetum gnemon*) adalah alkaloid, polifenol, saponin, tannin, stilbenoid dan flavonoid^{11,19,20,21}. Flavonoid merupakan senyawa aktif yang terdapat pada jaringan tanaman dan berperan sebagai antioksidan^{11,22}. Flavonoid diketahui mempunyai aktivitas inhibitor terhadap enzim xantin oksidase^{17,23,24}. Inhibisi terhadap enzim xantin oksidase oleh aktivitas dari flavonoid ini membuat hipoxantin tidak dapat diubah menjadi xantin untuk selanjutnya menjadi asam urat sehingga pembentukan asam urat berkurang.

Penelitian ini menggunakan subyek tikus putih, yang termasuk dalam mamalia bukan kelas primata dan memiliki enzim urikase. Enzim urikase berfungsi memecah asam urat dan membentuk produk akhir berupa alantoin. Alantoin bersifat sangat larut dalam air sehingga mengurangi akumulasi asam urat pada tubuh tikus³. Hal ini mungkin menjadi penyebab tidak signifikannya kenaikan asam urat pada penelitian yang dilakukan. Asam urat yang terbentuk dari katabolisme purin, dipecah oleh enzim urikase pada tubuh tikus menjadi alantoin yang larut air kemudian dieksresikan bersama urin. Dengan diubahnya asam urat menjadi alantoin, akumulasi asam urat pada tikus menjadi berkurang. Berbeda dengan manusia yang tidak memiliki enzim urikase, asam urat lebih banyak terakumulasi dalam tubuh manusia.

Induser asam urat yang umum digunakan untuk penelitian adalah kalium oksonat^{9,25,26}. Kalium oksonat bekerja secara kompetitif dengan cara menghambat kerja

enzim urikase pada tikus sehingga alantoin tidak terbentuk. Dengan dihambatnya alantoin oleh kalium oksonat, asam urat akan tertumpuk dan menyebabkan kondisi hiperuresemia¹³.

Kesimpulan

Berdasarkan studi eksperimental yang dilakukan, pemberian berbagai bagian melinjo (*Gnetum gnemon*) yakni daun (9,3 gram/kg BB), kulit buah (10 gram/kg BB) dan biji melinjo (13 gram/kg BB) selama 18 hari, tidak dapat menaikkan kadar asam urat dan membuat kondisi hiperurisemia pada tikus putih (*Ratus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* sehingga tidak dapat dijadikan sebagai induser asam urat.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai induksi hiperurisemia dengan cara pemberian intake diet tinggi purin menggunakan hewan uji yang tidak memiliki enzim urikase.
2. Menggunakan purin murni sebagai induser asam urat pada hewan uji yang dosisnya setara dengan asupan purin >1000 mg/hari pada manusia.

Daftar Pustaka

1. Sutrisna. (2013). *Penyakit Degeneratif*. Disampaikan pada seminar nasional 31 Maret 2013 di Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta. Diakses 19 Maret 2015, dari <http://publikasiilmiah.ums.ac.id/bitstream/handle/123456789/3272/PENYAKIT%20DEGENERATI%20F.pdf>
2. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. (2013). *Buletin Jendela Data & Informasi Kesehatan, Semester I, 2013*. Jakarta.
3. Rodwell, V. W. (2003). *Metabolisme Nukleotida Purin dan Pirimidin - Biokimia Harper 25th ed*. Hartono, A., (Trans). Jakarta: ECG. (Original work published 2002). 366-380.

4. Qazi, Y., Lohr, J. W. (2010). Hyperuricemia. *Medscape Drugs & Diseases*. Diakses tanggal 19 Maret 2015, dari <http://emedicine.medscape.com/article/241767-overview>
5. Hidayat, R. (2009). Gout dan Hiperurisemia. *Leading Article*. Diakses tanggal 19 Maret 2015, dari http://www.dexa-medica.com/sites/default/files/publish_upload090624821093001245818260Medicinus%20Edisi%20Juni%20-%20Agustus%202009.pdf
6. Rees, F., Hui, M., Doherty, M. (2014). Optimizing current treatment of gout. *Nature Reviews Rheumatology*, 10, 271–283. Diakses 21 Maret 2013, dari <http://www.nature.com/nrrheum/journal/v10/n5/full/nrrheum.2014.32.html>
7. Sukandar, E. Y., Teks Orasi Ilmiah, *Tren dan Paradigma Dunia Farmasi: Industri-Klinik-Teknologi Kesehatan*. Disampaikan pada Dies Natalis Institut Teknologi Bandung 45 tanggal 2 Maret 2004 di Institut Teknologi Bandung, Bandung. Diakses 1 April 2015, dari http://www.itb.ac.id/focus/focus_file/orasi-ilmiah-dies-45.pdf
8. Stavric, B., Nera, EA. (1978). Use of the uricase-inhibited rat as an animal model in toxicology [Abstrak]. Diakses 11 April 2015 dari <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/367691>
9. Huang, C. G., Shang, Y. J., Zhang, J., Zhang, J. R., Li, W.J., Jiao, B. H. (2008). Hypouricemic Effects of Phenylpropanoid Glycosides Acteoside of *Scrophularia ningpoensis* Serum Uric Acid Levels in Potassium Oxonate-Pre-treated Mice. *The American Journal of Chinese Medicine*, Volume 36, No.1, 149-157.
10. Sumartini, Widjaja, W. P. (2014). Kajian Pemanfaatan Limbah Kulit Melinjo Menjadi Krupuk Kulit Melinjo (*Gnetum Gnemon L.*). *Proceeding Presentasi Hasil Penelitian Hibah Program Desentralisasi, Sentralisasi dan Hibah Internal Unpas*, 38 – 49
11. Santoso, M., Naka, Y., Widjaja, C., Maguchi, T., Matoba, T., Takamura, H. (2010). Antioxidant and DNA Damage Prevention Activities of the Edible Parts of *Gnetum gnemon* and Their Changes upon Heat Treatment. *Food Sci. Technol. Res.*, 16(6), 549 – 556
12. Pribadi, F. W., Ernawati, D. A. (2010). Efek Catechin Terhadap Kadar Asam Urat, C-Reactive Protein (CRP) dan Malondialdehid Darah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Hiperurisemia. *Mandala of Health*. Volume 4, Nomor 1, 39-46.
13. Suhendi, A., Nurcahyanti, Muhtadi, Sutrisna, E. M. (2011). Aktivitas antihiperurisemia ekstrak air jinten hitam (*Coleus ambonicus Lour*) pada

- mencit jantan galur balb-c dan standardisasinya. *Majalah Farmasi Indonesia*. 22(2), 77 – 84
14. Sarawek, S. (2007). *Xanthine Oxidase Inhibition and Antioxidant Activity of An Artichoke Leaf Extract (Cynara Scolymus L.) and Its Compounds*. Disertasi strata tiga, University of Florida
 15. Setyoningsih, R. (2009). *Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Hiperurisemia pada Pasien Rawat Jalan RSUP Dr.Kariadi Semarang*. Artikel Penelitian, Universitas Diponegoro, Semarang
 16. Nengsi, S. W., Bahar, B., Salam, A. (2014). Gambaran Asupan Purin, Penyakit Arthritis Gout, Kualitas Hidup Lanjut Usia di Kecamatan Tamalanrea. Diakses tanggal 27 April 2016, dari <http://repository.unhas.ac.id/bitstream/handle/123456789/11346/SRI%20WAHYU%20NENGSIS%20K21110259.pdf?sequence=1>
 17. Wahyuningsih, S., Yulinah, E., Sukrasno., N. Karina. (2015). Efek Antihiperurikemia Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) pada Tikus Putih Wistar Jantan. *J Pharm Sci Pharm Pract*, 2015, Vol.2, No.1, pp. 4-7
 18. Batubara, I., Anggraeni, A., Darusman, L. K. (2012). Pengaruh Inhalasi Aroma Temulawak terhadap Nafsu Makan dan Bobot Badan Tikus. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, ISSN 1412-2855 Vol. 8 No. 3, 187-191
 19. Wulandari, S., Subandi, Muntholib. (2012). Inhibisi Xantin Oksidase oleh Ekstrak Etanol Kulit Melinjo (*Gnetum Gnemon*) Relatif Terhadap Allopurinol. Diakses 20 Maret 2016, dari <http://jurnal-online.um.ac.id/data/artikel/artikel15ECD9DCBF08E100E0ACA3C5AF4C07164.pdf>
 20. Parhusip, A. J. N., Sitanggang, A. B. (2011). Antimicrobial Activity of Melinjo Seed and Peel Extract (*Gnetum gnemon*) Against Selected Pathogenic Bacteria. *Microbiology Indonesia*. Volume 5, No.3. September 2011, p 103-112
 21. Kato, E., Tokunaga, Y., Sakan, F. (2009). Stilbenoids isolated from the seeds of Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) and their biological activity. *J Agric Food Chem*. 2009 Mar 25;57(6):2544-9
 22. Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian*. Vol. 9 No. 2 Sep. 2010: 196 - 202
 23. Lin, S., Zhang, G., Liao, Y., Pan, J., Gong, D. (2015). Dietary Flavonoids as Xanthine Oxidase Inhibitors: Structure–Affinity and Structure–Activity Relationships. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Aug 2015, 63 (35), pp 7784–7794
 24. Nijveldt, R. J., Nood, E., Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Norren, K., Leeuwen, P. A. M. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*. 2001;74:418–25
 25. Ariyanti, R., Wahyuningtyas, N., Wahyuni, A.S. (2007). Pengaruh Pemberian Infusa Daun Salam (*Eugenia Polyantha Wight*) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Darah Mencit Putih Jantan Yang Diinduksi Dengan Potasium Oksonat. *PHARMACON*, Vol. 8, No. 2, 56–63
 26. Dira, Harmely, F. (2014). Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Sambiloto (*Androgravis Paniculata Nees*), Brotowali (*Tinospora Crispa (L.) Hook. & Thomson*), Manggis (*Garcinia Mangostana L.*), Lada Hitam (*Piper Nigrum L.*) Dan Jahe Merah (*Zingiber Officinale Rosc.*) secara In Vivo. *Prosiding Seminar Nasional dan Workshop “Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik IV”* 134-140