

Pengaruh infusa herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap efek toksik aflatoksin B1 pada hepar tikus (*Rattus norvegicus*) (In Vivo)*

Sri Suharmi*, Wiryatun Lestariana**, Sitarina Widyarini***

*Bagian Farmasi Kedokteran, **Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran

***Bagian Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT

Sri Suharmi, Wiryatun Lestariana, Sitarina Widyarini - *Effect of water extract of meniran (Phyllanthus niruri L.) on toxic effect of aflatoxin B1 in liver of rats (Rattus norvegicus) (in Vivo)*

Phyllanthus niruri L. (*meniran*) is well known and can be used for traditional treatment of various diseases such as jaundice, diarrhea, and infection of tractus urinarius. The studies showed that the extract of *Phyllanthus niruri* L. could be used as antihepatotoxics. This study was designed to investigate the effect of 10%, 20%, and 30% water-extract of *Phyllanthus niruri* L. herbs on the rats' liver treated with 15 ug aflatoxin B1 (AFB1) in 0,2 ml propylene glycol, orally by tube, everyday for 16 and 24 weeks. Employing the analysis variance, significant effect was observed in serum glutamate-pyruvate transaminase (SGPT) and liver's cytosol glutamate-pyruvate transaminase (GPT), but was not significant in liver's cytosol glutathione S-transferase (GST). However among inter group analysis, significant decrease in SGPT and liver's cytosol GPT observe only group treated with 20% water-extract of *Phyllanthus niruri* L. herbs and AFB1 compared to group treated with AFB1 ($p < 0,05$). The study also demonstrated that 20% water-extract *Phyllanthus niruri* L. herbs could prevent metaplasia, hyperplasia, and proliferation of the bile duct epithelial cells and altered foci in the hepatocytes were caused by AFB1.

Keyword : aflatoxin B1 - glutamate-pyruvate transaminase - glutathion S-transferase - *Phyllanthus niruri* L. - rat's liver

ABSTRAK

Sri Suharmi, Wiryatun Lestariana, Sitarina Widyarini - *Pengaruh infusa herba meniran (Phyllanthus niruri L.) terhadap efek toksik aflatoksin B1 pada hepar tikus (Rattus norvegicus) (In Vivo)*

Meniran (Phyllanthus niruri L.) telah diketahui dapat digunakan sebagai obat tradisional berbagai penyakit seperti penyakit hati, diare, dan infeksi saluran kencing. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak herba meniran dapat digunakan sebagai antihepatotoksik. Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui efek infusa herba meniran 10%, 20%, dan 30% pada hepar tikus yang setiap harinya, diberi aflatoksin B1 (AFB1) 15 ug dalam 0,2 ml propilen glikol secara oral melalui sonde, selama 16 minggu dan 24 minggu. Hasil analisis Varian, pemberian infusa herba meniran pada tikus yang memperoleh AFB1 menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada glutamat-piruvat transaminase serum (SGPT) dan glutamat-piruvat transaminase (GPT) sitosol hepar, tetapi berbeda tidak bermakna pada glutathion S-transferase (GST) sitosol hepar. Hasil analisis antar grup menunjukkan bahwa penurunan GPT baik dalam serum maupun dalam sitosol hepar, bermakna hanya terjadi pada tikus yang mendapatkan infusa herba meniran 20% dan AFB1, dibanding dengan tikus yang hanya mendapatkan AFB1 ($p < 0,05$). Penelitian ini juga menunjukkan bahwa infusa herba meniran 20% dapat mencegah terjadinya metaplasia, hiperplasi, dan proliferasi sel-sel epitel pembuluh empedu dan foki dalam hepatosit yang disebabkan oleh AFB1.

-
- * Sri Suharmi, Wiryatun Lestariana, Department of Medical Pharmacy, Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia
 - ** Wiryatun Lestariana, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia
 - *** Sitarina Widyarini, Department of Pathology, Faculty of Medicine Veterinary Medicine, Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia

PENGANTAR

Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) merupakan tanaman obat yang belum banyak dibudidayakan di Indonesia. Tumbuhan ini secara tradisional digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit, antara lain kencing batu, diare, infeksi saluran kemih, dan sakit kuning¹. Dari berbagai penelitian, dilaporkan bahwa *Phyllanthus niruri* L. mengandung beberapa senyawa aktif yaitu flavonoid, lignan, asiklik, triterpena, alkaloida dan glikosida^{2,3,4,5}.

Aflatoksin B1 (AFB1) adalah senyawa xenobiotik dan merupakan metabolit sekunder yang terutama dihasilkan oleh kapang *Aspergillus flavus*. Senyawa tersebut bersifat mutagenik, karsinogenik, dan hepatotoksik⁶. International Agency for Research on Cancer (IARC) mengklasifikasikan AFB1 dan campuran aflatoksin sebagai karsinogen manusia kelompok I⁷. Sampai saat ini AFB1 masih merupakan masalah kesehatan terutama negara yang mempunyai iklim tropis, karena kapang penghasil aflatoksin mudah tumbuh pada suhu 20-30°C⁸. Dilaporkan bahwa hampir 90% karsinoma hepatoselular (KHS) di negara Afrika-Sahara, Asia Tenggara, Asia Timur, dan Melanesia, disebabkan faktor lingkungan yaitu AFB1 dan asbes⁹.

Sampai saat ini, obat modern yang tersedia untuk mengatasi KHS masih sangat terbatas dan harganya sangat mahal sehingga pada umumnya tidak terjangkau oleh masyarakat kurang mampu. Oleh karena itu, upaya pencarian obat alternatif yang mudah didapat dengan harga terjangkau serta dapat dipertanggungjawabkan perlu dilakukan.

Sehubungan dengan hal di atas, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui apakah infusa herba meniran dapat mencegah kelainan hepar tikus yang diberi AFB1 (*in vivo*), mengingat sasaran utama AFB1 adalah hepar. Parameter yang akan diukur adalah aktivitas enzim glutamat-piruvat transferase (GPT) dan aktivitas glutathion S-transferase (GST), serta gambaran histologis jaringan hepar tikus percobaan.

BAHAN DAN CARA

Sebagai bahan uji digunakan herba (terdiri dari batang dan daun) meniran (*Phyllanthus niruri* L.) yang sudah berbunga dan berbuah,

yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat di Tawangwangu Solo. Bahan dikeringkan pada suhu 40°-50° C, dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan *Mesh 40*. Serbuk dibuat infusa (ekstrak air) menurut Farmakope Indonesia¹⁰ dan selanjutnya diuapkan sampai mendapatkan masa dengan kadar tertentu.

Subjek penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*), jantan, umur 1-2 bulan, berat badan 60-70g, tampak sehat (kadar hemoglobin 11-13 mg dan kadar protein 6-7 g dalam 100 ml serum). Hewan uji tersebut diperoleh dari Unit Penelitian Hewan Percobaan (UPHP)-UGM, Yogyakarta. Jumlah tikus yang digunakan 80 ekor, dibagi secara acak menjadi 8 kelompok (K_I - K_{VIII}), masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor tikus, dan setiap kelompok dibagi menjadi 2 grup (A dan B). Semua kelompok setiap harinya diberi rangsum dan air minum *ad libitum*, serta perlakuan selama 16 dan 24 minggu seperti pada TABEL 1.

Pada akhir percobaan, tikus dipuasakan selama kurang lebih 10 jam, darahnya diambil melalui sudut mata, untuk ditentukan kadar SGPT (dengan reagensia KIT yang diperoleh dari Merck). Kemudian tikus dimatikan untuk diambil hatinya. Hepar dibersihkan dari darah, dan ditimbang. Sebagian hepar dibuat sediaan jaringan hepar untuk pemeriksaan histologi di Laboratorium Patologi FKH-UGM menurut metode pewarnaan H & E¹¹, sisanya (berat tertentu) dicuci berulang-ulang dengan larutan sukrose 0,25 M, kemudian dibuat homogenat dan dipusingkan. Supernatan/sitosol dipisahkan dan digunakan untuk pemeriksaan kadar GPT (dengan reagensia KIT seperti di atas) dan aktivitas GST menurut metode Asaoka & Takahashi¹².

Hasil pemeriksaan darah dan sitosol (aktivitas GPT dan aktivitas GST) dianalisis dengan ANAVA 3 jalan (Anava ABC).

Hasil gambaran histologis jaringan hati dianalisis dengan membandingkan antara gambar satu dengan gambar yang lain antar kelompok tikus dan antar tikus dalam kelompok itu sendiri serta dengan kontrol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas GPT dalam serum dan sitosol hepar

Hasil analisis GPT serum (SGPT) dan GPT sitosol hepar diperoleh seperti pada TABEL 2.

TABEL 1. – Perlakuan 8 kelompok tikus percobaan

Kelompok Tikus	Jumlah Tikus	Lama Perlakuan (Minggu)	Perlakuan Selama 16 dan 24 Minggu	
1. a. KI-A	5	16	Aquadest	1 ml
b. KI-B	5	24	Propilen glikol	0,2 ml
2. a. KII-A	5	16	Aflatoksin B1 (AFB1) 15 ug dalam propilen glikol (p.g) 0,2 ml	
b. KII-B	5	24		
3. a. KIII-A	5	16	Infusa Herba Meniran 30% 1 ml (M ₃₀) setara dengan serbuk 4,5 g	
b. KIII-B	5	24		
4. a. KIV-A	5	16	Infusa Herba Meniran 20% 1 ml (M ₂₀) setara dengan serbuk 3,0 g	
b. KIV-B	5	24		
5. a. KV-A	5	16	Infusa Herba Meniran 10% 1 ml (M ₁₀) setara dengan serbuk 1,5 g	
b. KV-B	5	24		
6. a. KVI-A	5	16	AFB1 15 ug/0,2 ml p.g 1 ml M ₃₀	
b. KVI-B	5	24		
7. a. KVII-A	5	16	AFB1 15 ug/0,2 ml p/g 1 ml M ₂₀	
b. KVII-B	5	24		
8. a. KVIII-A	5	16	AFB1 15 ug/0,2 ml p.g 1 ml M ₁₀	
b. KVIII-B	5	24		

TABEL 2. – Hasil pengamatan aktivitas GPT serum dan sitosol hepar tikus percobaan

Kelompok tikus percobaan	Kadar GPT (mean ± SD)			
	Serum (U/100 ml)		Sitosol (U/g hepar)	
	16 mg (A)	24 mg (B)	16 mg (A)	24 mg (B)
KI	6,040 ± 0,586	6,080 ± 0,638	0,091 ± 0,005	0,090 ± 0,007
KII	7,780 ± 0,588*	8,960 ± 0,611*	0,140 ± 0,015*	0,157 ± 0,012*
KIII	5,880 ± 0,487	7,780 ± 0,390*	0,092 ± 0,010	0,104 ± 0,010**
KIV	5,140 ± 0,568	6,080 ± 0,517	0,080 ± 0,011	0,085 ± 0,006
KV	5,640 ± 0,650	5,600 ± 0,806	0,085 ± 0,012	0,077 ± 0,009
KVI	7,340 ± 1,390**	8,060 ± 1,305*	0,117 ± 0,015*	0,122 ± 0,016*
KVII	6,020 ± 0,342	6,140 ± 0,643	0,102 ± 0,012	0,097 ± 0,013
KVIII	6,340 ± 0,503	7,720 ± 0,460**	0,099 ± 0,008	0,188 ± 0,011*

* $p < 0,01$, ** $p < 0,05$ dengan kelompok kontrol (KI)

Dalam tabel tersebut, ditunjukkan bahwa pada perlakuan 16 minggu dan 24 minggu, aktivitas SGPT yang tinggi dijumpai pada tikus-tikus yang mendapatkan perlakuan dengan AFB1 (KII-A dan KII-B), dan yang mendapatkan AFB1 dan infusa herba meniran dengan kadar 30% (KVI-A dan KVI-B). Hasil analisis Anava menunjukkan bahwa SGPT pada kelompok-kelompok tersebut ada perbedaan yang bermakna dengan kelompok lainnya ($p < 0,05$). Demikian pula antar kelompok-kelompok tersebut, ada perbedaan yang bermakna (KII-A vs KVI-A, $p < 0,05$; KII-B vs KVI-B, $p < 0,01$). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian infusa herba meniran 30% (M₃₀) pada kelompok tikus yang mendapatkan AFB1, mempunyai pengaruh menurunkan SGPT, tetapi pengaruhnya belum

berarti. Pada pemberian infusa herba meniran dengan kadar 20% (M₂₀) pada tikus yang mendapatkan perlakuan AFB1 (KVII-A dan KVII-B), menunjukkan penurunan SGPT secara bermakna ($p < 0,01$). Namun pada pemberian infusa herba meniran 10% (M₁₀), penurunan SGPT yang bermakna hanya dijumpai pada pemberian selama 16 minggu, tidak pada yang 24 minggu. Dari hasil ini didapatkan bahwa infusa herba meniran 20% dapat menghambat kenaikan SGPT tikus yang diberi AFB1.

Hasil pengamatan aktivitas GPT sitosol hepar pada TABEL 2. yang menunjukkan angka tinggi dan berbeda bermakna dengan kontrol adalah pada kelompok tikus yang mendapatkan AFB1 (KII-A, KII-B, $p < 0,01$), M₃₀ (KIII-B, $p < 0,05$),

AFB1+M30 (KVI-A, KVI-B, $p < 0,01$), dan AFB1+M10 (KVIII-B, $p < 0,01$). Hasil-hasil tersebut menunjukkan bahwa hanya infusa herba meniran dengan kadar 20% yang dapat mencegah kenaikan GPT sitosol hepar tikus yang diberi AFB1, baik selama 16 minggu maupun 24 minggu. Sedang infusa herba meniran kadar 10% hanya dapat mencegah kenaikan GPT sitosol hepar tikus yang diberi AFB1 selama 16 minggu. Hasil ini menunjukkan bahwa penghambatan infus herba meniran, di samping dipengaruhi oleh kadar herba meniran sendiri juga oleh lamanya waktu percobaan. Namun demikian, karena kisaran GPT dalam serum maupun sitosol lebar, maka untuk menegaskan/menunjukkan bahwa infusa herba meniran dapat mencegah efek toksik AFB1, perlu dilihat mekanisme lain dan atau gambaran histologisnya.

Aktivitas GST sitosol

Aktivitas GST sitosol hepar tikus dapat dilihat pada TABEL 3. Dari hasil tersebut aktivitas GST yang tinggi dan berbeda bermakna dengan kontrol, adalah pada tikus yang mendapatkan AFB1 (KII-A dan KII-B, $p < 0,01$) dan tikus yang mendapatkan AFB1 dan M30 (KVI-B, $p < 0,05$). Sedang kelompok lain dibanding dengan kelompok kontrol, ada perbedaan tetapi tidak bermakna. Berdasarkan Lam *et al.*¹³, peningkatan aktivitas GST menunjukkan adanya proses detoksikasi senyawa-senyawa toksik yang meningkat dalam tubuh tikus.

TABEL 3. Aktivitas GST sitosol hepar tikus percobaan

Kelompok tikus percobaan	Nilai aktivitas GST (mean \pm SD) dalam sitosol hepar tikus (nM/mg protein hepar)	
	16 mg (a)	24 mg (b)
K _I	10,654 \pm 0,855	10,623 \pm 0,539
K _{II}	13,281 \pm 1,134*	15,333 \pm 1,904*
K _{III}	11,695 \pm 1,008	12,302 \pm 0,659
K _{IV}	11,536 \pm 0,777	11,899 \pm 0,941
K _V	10,839 \pm 1,089	11,259 \pm 1,053
K _{VI}	11,993 \pm 1,369	13,756 \pm 2,313**
K _{VII}	11,601 \pm 0,867	12,898 \pm 0,766
K _{VIII}	12,406 \pm 2,011	12,177 \pm 1,775

* $p < 0,01$, ** $p < 0,05$ dengan kelompok kontrol (K_I)

Hasil tersebut di atas menunjukkan bahwa kemampuan meniran dalam mencegah efek toksik

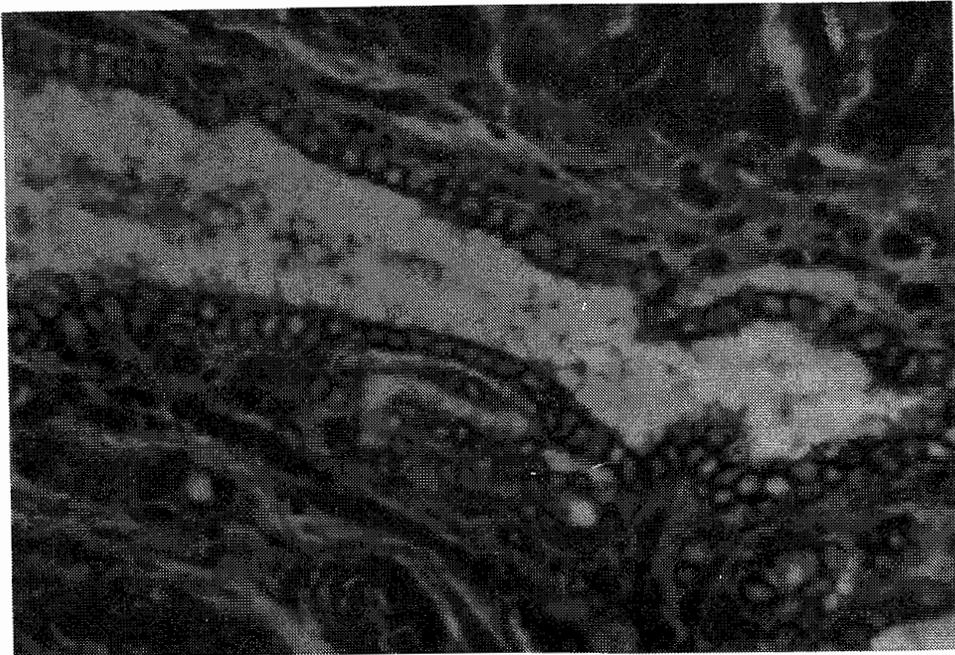
AFB1, kemungkinan tidak melalui proses reaksi yang dikatalisis oleh enzim GST, tetapi melalui jalur lain yaitu melalui reaksi yang dikatalisis oleh sistem sitokrom P-450. Diketahui bahwa sitokrom P-450 merupakan komponen enzim monooksigenase yang mengkatalisis suatu senyawa xenobiotik menjadi metabolit tidak toksik, kurang toksik, atau toksik.

Gambaran histologis hepar tikus

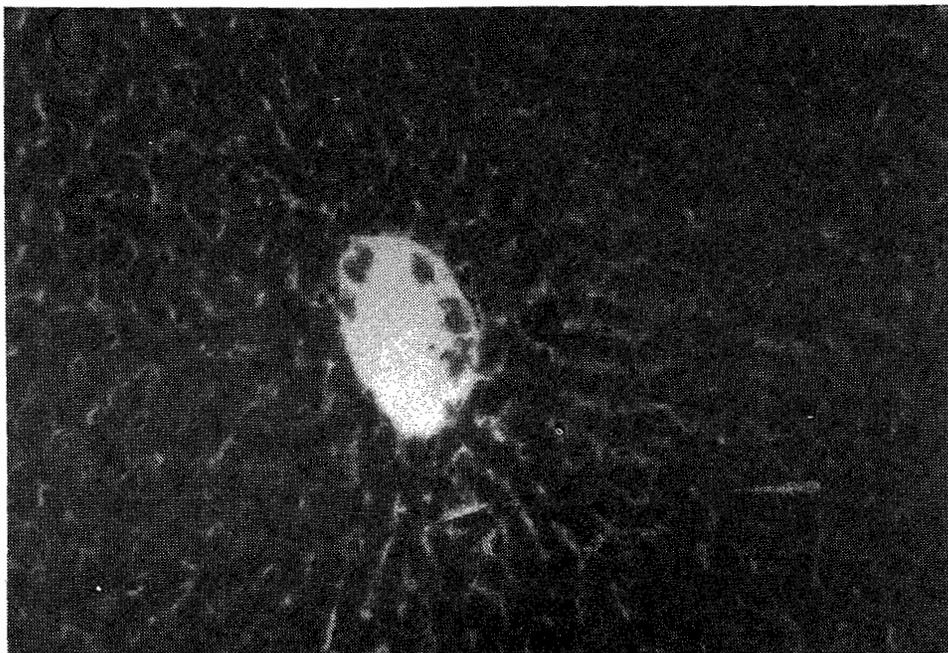
1. Tikus yang mendapatkan rangsum dan propilen glikol saja (K_I, sebagai kontrol), infusa herba meniran 20% (K_{IV}), infusa herba meniran 10% (K_V), AFB1 dan infusa meniran 20% (K_{VI}), baik perlakuan selama 16 minggu maupun 24 minggu, serta tikus yang mendapatkan AFB1 dan infusa herba meniran 10% selama 16 minggu (K_{VII-A}) menunjukkan gambaran histologis hepar normal (lihat GAMBAR 1 dan 2). Tikus yang mendapatkan perlakuan AFB1 dan infusa herba meniran 10% selama 24 minggu (K_{VIII-B}), 1 di antara 5 ekor tikus, sel-sel epitel pembuluh empedunya menunjukkan hiperplasia. Demikian pula 1 diantara 5 ekor tikus yang mendapatkan infusa herba meniran 30%, dan yang mendapatkan AFB1 + infusa herba meniran 30% selama 16 minggu, sel-sel epitel pembuluh empedunya mengalami hiperplasia dan metaplasia serta pada perlakuan selama 24 minggu pada hepatositnya ditemukan adanya foki (lihat GAMBAR 4).

2. Tikus yang hanya mendapatkan rangsum dan AFB1, baik pada perlakuan selama 16 minggu maupun selama 24 minggu, sel-sel epitel pembuluh empedu dan hepatositnya menunjukkan kelainan. Pada perlakuan 16 minggu, sel-sel epitel pembuluh empedu mengalami hiperplasia (3 di antara 5 ekor tikus), metaplasia (3 di antara 5 ekor tikus), dan proliferasia (1 di antara 5 ekor tikus), pada hepatositnya terdapat foki (3 di antara 5 ekor tikus). Pada perlakuan selama 24 minggu hampir semua tikus, sel-sel epitel pembuluh empedu mengalami hiperplasia, metaplasia, dan proliferasi (lihat GAMBAR 3), pada hepatositnya terdapat foki (lihat GAMBAR 4).

Hasil-hasil gambaran histologis hepar tikus masing-masing kelompok setelah dihubungkan dengan perubahan aktivitas GPT-nya baik dalam serum maupun sitosol hepar, nampaknya ada hubungan antara peningkatan aktivitas GPT



GAMBAR 1. – Gambaran histologis sel-sel epitel pembuluh empedu normal tikus. Pewarnaan H & E, 40 X.

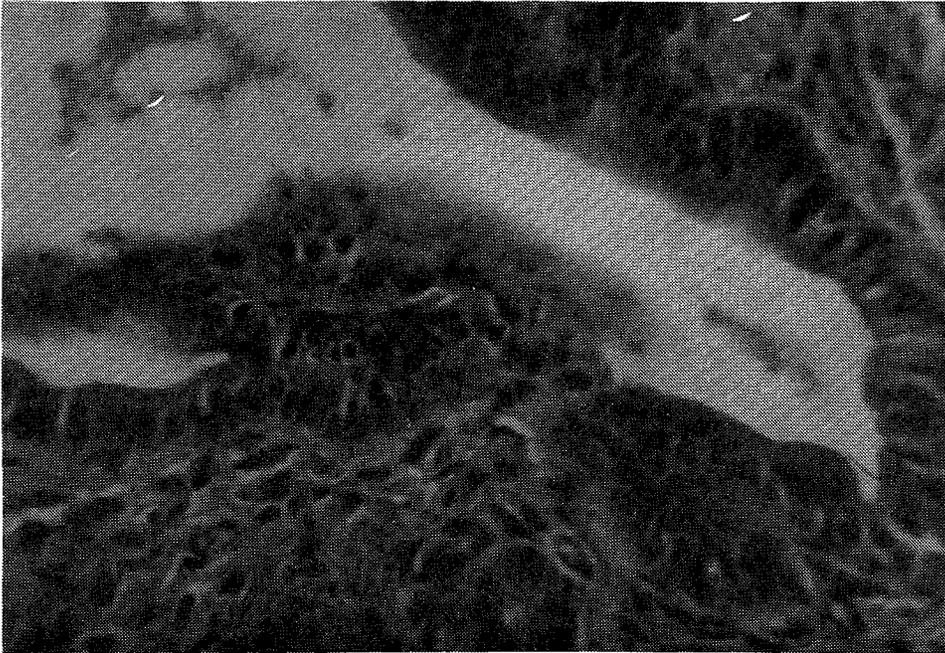


1. hepatosit normal; 2. inti sel

GAMBAR 2. – Gambaran histologis hepatosit normal tikus. Pewarnaan H & E, 20 X

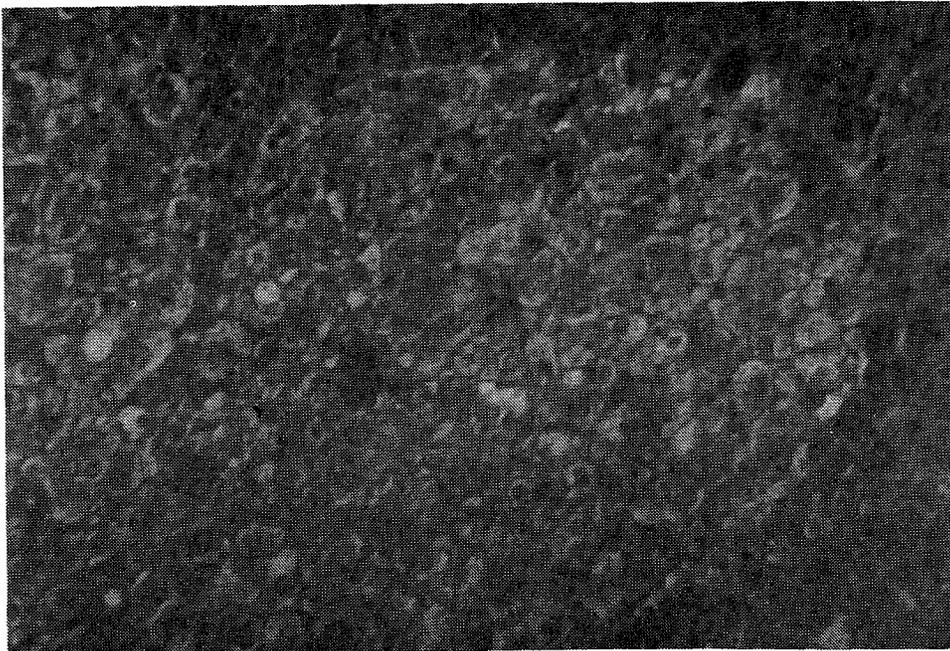
tersebut dengan kelainan gambaran histologis hepar. Rodwell¹⁴ melaporkan bahwa adanya peningkatan aktivitas GPT, merupakan gambaran adanya gangguan atau kelainan pada hepar.

Ditinjau dari hasil analisis aktivitas GPT baik dalam serum maupun sitosol hepar, dan aktivitas GST dalam sitosol hepar, serta gambaran histologis hepar tikus, maka dari penelitian ini dapat



Sel-sel epitel pembuluh empedu mengalami
a. metaplasia; b. hiperplasia; c. proliferasi

GAMBAR 3. – Gambaran histologis sel-sel epitel pembuluh empedu yang mengalami metaplasia, hiperplasia, proliferasi. Pewarnaan H & E, 40 X



1. hepatosit normal; 2. foki pada hepatosit

GAMBAR 4. – Gambaran histologis foki hepatosit tikus. Pewarnaan H & E, 40 X

ditunjukkan bahwa infusa herba meniran 20% mampu mencegah efek hepatotoksik yang disebabkan AFB1. Namun perlu diketahui bahwa pada penelitian ini peningkatan aktivitas GST

yang menunjukkan perbedaan bermakna hanya pada tikus yang mendapatkan AFB1 saja. Oleh karena itu untuk memperjelas bahwa infusa herba meniran dapat mencegah efek hepatotoksik AFB1

tidak hanya melalui peningkatan aktivitas GST, perlu dilakukan penelitian lanjutan yaitu dengan menetapkan kadar sitokrom P-450 dalam protein mikrosoma hepar tikus. Diketahui bahwa hasil analisis kandungan senyawa aktif dalam infusa herba meniran yang terbanyak adalah senyawa flavonoid. Sjamsul *et al.*¹⁵ melaporkan bahwa senyawa flavonoid mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Dalam hal ini mungkin senyawa flavonoid tersebut menekan proses oksidasi yang dikatalisis oleh sitokrom P-450.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

1. Infusa herba meniran 20% dapat mencegah peningkatan aktivitas GPT dalam serum dan sitosol hepar, serta dapat mencegah kelainan di hepar tikus yang disebabkan oleh efek toksik AFB1.
2. Infusa herba meniran 10-20% tidak menimbulkan kelainan pada hepar tikus yang tidak mendapatkan AFB1.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Pimpinan Lembaga Eijkman di Jakarta atas pemberian dana melalui SK No. 076/SPK/DOK/ 1996 untuk penelitian ini.

KEPUSTAKAAN

1. Subarnas, A, Sidik. *Phyllanthus niruri* Linn.: kimia, farmakologi dan penggunaan dalam obat tradisional. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, 1993; 2(4):13-9.
2. Petit GR, Cragg GM, Suffness MI, Gust D, Boettner MW, Saenz-Renaud JA, et al. Antineoplastic agents.
3. Syamasundar KV, Singh B, Thakus RS, Husain A, Kiso Y, and Akino H. Antihepatotoxic principles of *Phyllanthus niruri* herbs. *J Ethnopharmacology*, 1985; 14: 41-4.
4. Huang YL, Chen, CC, Ou JC. Isolintetralin: A new lignan from *Phyllanthus niruri*. *Planta Med*, 1992; 58:473.
5. Sudarsono, Pudjoarinto A, Gunawan D, Subagus Wahyuono S, Donatus IA, Dradjad M, et al. *Phyllanthus niruri* L. (euphorbiaceae), meniran dalam tumbuhan obat. Hasil penelitian, Sifat-sifat dan penggunaan. Yogyakarta: PPOT-UGM, 1996.
6. Golblatt LA. Aflatoxin, Scientific background, control, implication. New York: Academic Press, 1969.
7. Eaton LD, Gallagher EP. Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*. 1994; 3: 135-72.
8. Spensley PC. Aflatoxin the active in Turkey disease. *Endeavour*, 1963; 22: 75-9.
9. Buiatti. Chemoprevention of primary liver cancer in Chemoprevention in Cancer Control. IARC Scientific Publication no 136. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1996.
10. Anonim. Farmakope Indonesia, Edisi IV Jakarta: Departemen Kesehatan R.I., 1995.
11. Anonim. Manual of histologic and special staining technics, Washington DC: Walter Piced Medical, 1957.
12. Asaoka K, Takashi K. 1983. A colorimetric assay of glutathione S-transferases using *o*-dinitrobenzene as a substrate. *J Biochem*. 1983;94: 1685-8.
13. Lam LKT, Li Y, Hasegawa S. Inhibition of benzo(a)pyrene-induced forestomach neoplasia by citrus limonoids in mice. *Nutr. Cancer*. 1989;12: 43-47.
14. Rodwell VW. 1993. Metabolism of purine and pyrimidine nucleotide In: Murray RK, Graniner DK, Mayes PA, Rodwell VW (eds). *Harper's Biochemistry* 23rd Ed. New York: A Lange Medical Book, 1993.
15. Sjamsul AA, Hakim EH, Makmur, L. Flavonoid dan phytomedica, kegunaan dan prospek. *Phyto Medica* 1990;1(2):120-7.