

## Efek Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Penurunan Kadar Serum Asam Urat dan Ureum pada Tikus Putih

### *Effect of Betel Leaf Extract (Piper betle L.) to Decrease Serum Uric Acid and Ureum Levels in Rat*

Alfitria Sari<sup>1\*</sup>, Sonlimar Mangunsong<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup> Poltekkes Kemenkes RI Palembang Jurusan Farmasi, Sumatera Selatan

\*Email:sarialfitria@yahoo.co.id

#### Abstrak

Peningkatan asam urat menjadi faktor risiko terhadap penyakit kardiovaskuler tradisional. Daun sirih (*Piper betle* L.) mengandung senyawa *betlephenol* diduga dapat menurunkan kadar asam urat. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan ekstrak daun sirih dalam menurunkan kadar serum asam urat dan ureum tikus putih jantan. Penelitian menggunakan tikus putih jantan berumur 3 bulan, berat 170-214 gram, dibagi 6 kelompok yaitu kelompok I kontrol, kelompok II (induksi dan dosis kombinasi ekstrak daun sirih : propolis (1:1)), kelompok III (induksi dan ekstrak daun sirih dosis 10,37 mg/200 gr BB), kelompok IV (induksi dan ekstrak daun sirih dosis 41,48 mg/200 gr BB), kelompok V (induksi dan allopurinol dosis 1,8 mg/200 gr BB), dan kelompok VI kontrol negatif (induksi dan aquadest). Induksi diet kaya purin yang diberikan adalah jus hati ayam sebanyak 3 ml secara oral selama sepuluh hari. Pengukuran kadar asam urat dan ureum menggunakan Spektrofotometri Biosystem A 15. Signifikansi diterima pada nilai  $P < 0,05$ . Hasil yang diperoleh dianalisis dengan uji ANOVA *one-way* dilanjutkan uji LSD *test* menunjukkan perbedaan asam uratsignifikan antara kelompok II dan IV dengan kontrol negatif. Namun, tidak memberikan pengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar ureum hewan coba. Ekstrak daun sirih dosis 41,48 mg/200 grBB dan dosis ekstrak kombinasi dapat menurunkan kadar asam urat, sehingga berpotensi sebagai bahan hipourikemia.

Kata kunci: *Piper betel*, asam urat, ureum, *betlephenol*, tikus putih

#### Abstract

*Hyperuricaemia is associated with an increased risk factors of traditional cardiovascular diseases. The Betel (Piper betle L.) contain betlephenol may can used to decrease uric acid values. Its The aim of this study was to examined effect of that extract to decreased serum uric acid and ureum level on rat. Three month male Sprague-Dawley rats 170 to 214 g body weight were used for the experiments. High diet purin induction gave 3 mL/day for 10 days. Group I (withouth induction), Group II (induction and gave combine extract with propolis (1:1)), Group III (induction and extract 10,37 mg/200 gr BB), Group IV (induction and 41,48 mg/200 gr BB), Group V (induction and allopurinol 1,8 mg/200 gr BB), Gropu VI kontrol negatif (induction and aquadest). Spektrofotometric Biosystem A 15 were used to assessed levels of uric acid and ureum levels.  $P < 0.05$  was considered to indicate a significant difference. As a result Groups II and IV of experiment indicated new insights into the antihyperuricemic activities. Variance was analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) and a LSD correction with statistical software. However no significant difference with ureum level. The Betel extract of 41,48 mg/200 g-bw doses and its combine with which can possibly be developed into potential hypouricemic agents.*

Key words: *Piper betel*, uric acid, ureum, *betlephenol*, rat

## PENDAHULUAN

*Gout* merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan pembentukan dan pengendapan kristal urat pada sendi sehingga menimbulkan rasa nyeri dan bengkak.<sup>1,2</sup> *Gout* merupakan salah satu penyakit yang banyak diderita oleh kelompok usia 30-50 tahun, yang jika tidak ditangani secara tepat dapat mengakibatkan cacat sendi.<sup>3</sup> Data penelitian dilaporkan terjadi kasus cacat sendi pada penderita *gout* berusia 30 tahun ke atas di siku, jari dan lutut.<sup>4,5</sup> Menurut Laporan Bulanan Data Kesehatan Januari 2011, prevalensi penyakit radang sendi (rematik) mencapai 10,3% (6.272 orang) (Dinas Kesehatan Kota Palembang).<sup>6</sup>

Peningkatan kadar asam urat darah dapat menyebabkan pengendapan kristal urat dalam ginjal.<sup>7</sup> Pemeriksaan ureum dan kreatinin dapat dijadikan sebagai salah satu parameter untuk menilai fungsi ginjal normal. Ureum merupakan hasil utama dari metabolisme protein dalam tubuh. Kadar ureum dalam serum darah bergantung pada katabolisme (pemecahan) protein di dalam hati yang diekskresikan ke dalam urin melalui ginjal. Jika terjadi gangguan, zat ini akan meningkat jumlahnya di dalam darah dan menjadi indikasi rusaknya fungsi ginjal dan menjadi faktor risiko penyakit kardiovaskuler tradisional.<sup>8,9</sup>

Penggunaan bahan alam sebagai obat cenderung meningkat, bahan alam sebagai obat memiliki kelebihan, yaitu meskipun penggunaannya dalam waktu lama tetapi efek samping yang ditimbulkan relatif kecil sehingga dianggap lebih aman.<sup>10</sup> Salah satu bahan alam sebagai alternatif pengobatan penyakit asam urat adalah daun sirih (*Piper betle* L.) yaitu dengan cara meminum rebusan 7 lembar daun *P. betle* L..<sup>11</sup> Hasil skrining fitokimia menunjuk-

kan daun *P. betle* L. mengandung minyak terbang (betlephenol), seskuiterpen, pati, diatase, gula, zat samak, triterpenoida dan tanin.<sup>12</sup>

Penelitian terdahulu dari daun *P. betle* L. menyebutkan bahwa pemberian fraksi air daun *P. betle* L. pada dosis 100 mg/kg BB pada kelompok hiperkolesterol mampu menurunkan kadar kolesterol total dan LDL pada tikus hiperkolesterol.<sup>13</sup> Berdasarkan hasil penelitian.<sup>14</sup> senyawa flavonoid yang ditemukan dalam daun *P. betle* L. yaitu kuersetin, morin dan katekin. Kandungan kimia yang diduga berpotensi menurunkan kadar asam urat dalam darah adalah flavonoid. Menurut Coss *et al.* (1998),<sup>15</sup> dari *Departement of Pharmaceutical Sciences, University of Antwerp* Belgia menyatakan bahwa beberapa senyawa flavonoid bersifat antioksidan yang dapat menghambat kerja enzim xantin oksidase dan superoksidase yang berperan dalam pembentukan asam urat dalam tubuh. Selain ekstrak daun *P. betle* L., pada penelitian ini juga digunakan propolis yang salah satu kandungan zat aktifnya adalah flavonoid. Flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan sehingga berpotensi menghambat kerja xantin oksidase yang berperan dalam pembentukan asam urat. Berdasarkan uraian tersebut, peneliti tertarik melakukan penelitian ilmiah tentang pengaruh ekstrak daun *P. betle* L. terhadap penurunan kadar asam urat dan ureum serum darah pada hewan coba.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh ekstrak daun *P. betle* L. terhadap penurunan kadar asam urat dan ureum dalam darah hewan coba.

## BAHAN DAN CARA

Desai penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Juni 2013 di laboratorium Farmakognosi, Farmasetika dan Farmakologi Poltekkes Kementerian Kesehatan R.I Palembang Jurusan Farmasi dan Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain jarum oral, spuit, kapas, tabung sentrifuge, blender, timbangan analitik, gelas ukur (pyrex), botol coklat untuk maserasi, mortir dan stamper, seperangkat alat destilasi vakum, sarung tangan, spektrofotometer biosystem A 15 dan perlengkapan pemeliharaan tikus (kandang, tempat makan dan minum).

Bahan penelitian antara lain ekstrak etil asetat *P. betle L.*, propolis, jus hati ayam, Na CMC 1%, tablet Allopurinol, tikus, aquadest dan eter.

Hewan percobaan adalah tikus putih jantan galur wistar yang berumur 3-5 bulan, memiliki berat badan antara 170-214 gram sebanyak 24 ekor dibagi menjadi 6 kelompok masing-masing 4 ekor tikus.

Ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan etil asetat sebagai cairan penyari. Langkah-langkah ekstraksi secara maserasi berdasarkan Farmakope Indonesia Edisi IV.

Dosis yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan dosis empiris untuk menurunkan kadar asam urat yaitu 7 lembar daun *P. betle L.*. Dosis tersebut kemudian dikonversikan ke tikus dan dihitung berdasarkan hasil randemen ekstrak kental daun *P. betle L.*, sehingga diperoleh dosis ekstrak daun *P. betle L.* 10,37 mg/200 gr BB, 41,48 mg/200 gr BB (4 kali dosis I), sedangkan untuk dosis ekstrak kombinasi menggunakan propolis berdasarkan penelitian Lulupoy (2010),<sup>16</sup> yaitu propolis mampu menurunkan kadar trigliserida tikus yang

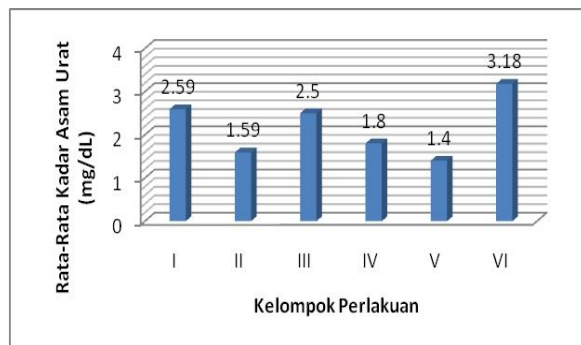
diinduksi diet tinggi lemak pada dosis 50 mg/hari, yang kemudian dikombinasikan dengan dosis ekstrak daun *P. betle L.* 10,37 mg/200 gr BB. Kontrol positif yang diberikan adalah Allopurinol dengan dosis 1,8 mg/200 gr BB berdasarkan perhitungan konversi dosis ke tikus.

Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus putih jantan yang dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok I (kontrol), kelompok II (dosis kombinasi ekstrak daun *P. betle L.* : propolis (1:1)), kelompok III (dosis ekstrak daun *P. betle L.* 10,37 mg/200 gr BB), kelompok IV (dosis ekstrak daun *P. betle L.* 41,48 mg/200 gr BB), kelompok V (allopurinol 1,8 mg/200 gr BB) dan kelompok VI (aquadest). Pengujian efek ekstrak daun *P. betle L.* dilakukan pada hari ke-0 kelompok kontrol (Kelompok I) diambil darahnya secara intrakardial kemudian ditampung dalam tabung *sentrifuge* untuk mengukur kadar asam urat dan ureum awal tikus putih jantan. Pada hari ke-1, setiap kelompok diberi diet kaya purin (jus hati ayam 3ml) secara oral dan kemudian diberikan dosis perlakuan. Pada hari ke-8 semua kelompok perlakuan diambil darahnya secara intrakardial dan ditampung di dalam tabung *sentrifuge* untuk mengukur perubahan kadar asam urat dan ureum.

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan kemudian dianalisis secara statistik uji ANOVA *one-way* dengan Uji *LSD test* dengan program SPSS 16 for windows.

## HASIL

Pada proses ekstraksi daun *P. betle L.* diperoleh randemen sebesar 2,4%. Hasil pengukuran kadar asam urat dan ureum darah tikus putih jantan setelah pemberian suspensi ekstrak daun *P. betle L.* : propolis (1:1), suspensi ekstrak daun *P. betle L.*



**Gambar 1. Perbedaan Rata-rata Kadar Asam Urat Kelompok Perlakuan**

Keterangan :

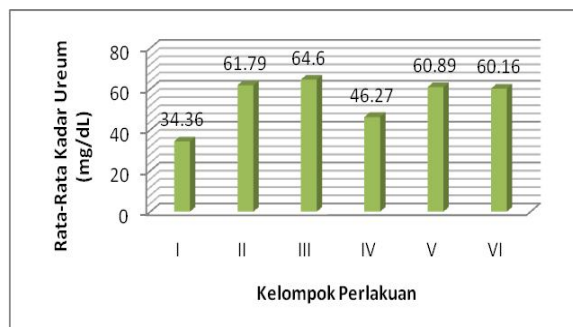
Kelompok I (normal)

Kelompok II (induksi dan suspensi ekstrak daun *P. betle L.*: propolis (1:1)

Kelompok III (induksi dan suspensi ekstrak daun *P. betle L.* dosis 10,37 mg/200 gr BB)

Kelompok IV (induksi dan suspensi ekstrak daun *P. betle L.* dosis 41,48 mg/200 gr BB)

Kelompok V (induksi dan suspensi Allopurinol dosis 1,8 mg/200 gr BB), Kelompok VI (induksi dan aquadest).



**Gambar 2. Perbedaan Rata-rata Kadar Ureum Kelompok Perlakuan**

dosis 10,37 mg/200 gr BB, suspensi ekstrak daun *P. betle L.* dosis 41,48 mg/200 gr BB, suspensi Allopurinol dosis 1,8 mg/200 gr BB dan aquades yang diberikan pada masing-masing kelompok perlakuan selama sepuluh hari berturut-turut yang sebelumnya telah diberi diet hati ayam secara bersamaan sebanyak 3 ml, selanjutnya diberikan jus hati ayam dan urea 2% selama tiga hari sebanyak 3 ml adalah sebagai berikut.

## DISKUSI

Pada penelitian ini digunakan sampel simplisia daun *P. betle L.* yang diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etil asetat yang telah didestilasi. Hasil maserasi kemudian dipekatkan menggunakan alat destilasi vakum sehingga diperoleh ekstrak kental daun *P. betle L.* sebanyak 12 gram dengan randemen sebesar 2,4% yang didapatkan dari ekstraksi 500 gram simplisia daun *P. betle L.* yang sudah dirajang halus dan dikering anginkan. Pada penelitian ini untuk meningkatkan kadar asam urat darah kelompok perlakuan dengan memberikan diet kaya purin. Diet kaya purin berupa jus hati ayam, yang merupakan makanan dengan kadar purin tinggi.<sup>2</sup>

Pemberian jus hati ayam sebanyak 3 ml secara oral selama tujuh hari belum menunjukkan kenaikan kadar asam urat dibandingkan dengan hasil kelompok normal yang diperoleh pada Gambar 1., sehingga pemberian diet kaya purin dilanjutkan dengan penambahan urea 2% (Sonlimar dan Sarmalina)<sup>17</sup> dan diperpanjang selama 3 hari. Pemberian bersamaan diet kaya purin dan dosis perlakuan bertujuan agar ekstrak yang diberikan dapat menghambat peningkatan asam urat oleh xantin oksidase, sehingga dapat dijadikan alternatif untuk mengobati asam urat selain menggunakan obat modern. Pengukuran kadar asam urat dan ureum serum darah tikus putih jantan dilakukan awal (hari ke-0) dan akhir (hari ke-10). Darah tikus untuk pengukuran kadar asam urat dan ureum diambil secara intrakardial sebanyak 3 ml.

Data hasil pengukuran kadar asam urat darah tikus disajikan dalam tabel selanjutnya dianalisis menggunakan metode uji ANOVA one-way. Hasil

pengujian *post hoc* menggunakan *LSD test* kadar asam urat pada menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kontrol negatif dan kontrol positif dengan angka signifikan 0,000 ( $p < 0,05$ ). Pada dua kelompok perlakuan yaitu kelompok II (diberi diet kaya purin dan suspensi ekstrak daun *P. betle L.*: propolis (1:1)), kelompok uji IV (diberi diet kaya purin dan suspensi ekstrak daun *P. betle L.* dosis 41,48 mg/200 gr BB) terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kontrol negatif dengan angka signifikan masing-masing 0.002 ; 0.003 ( $p < 0,05$ ). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dosis ekstrak daun *P. betle L.* paling efektif menurunkan asam urat, yaitu pada dosis 41,48 mg/200 gr BB.

Hasil skrining fitokimia yang dilakukan Tarigan dkk. (2008),<sup>12</sup> menunjukkan terdapat senyawa flavonoid, alkaloid, triterpenoid dan tanin dalam daun *P. betle L.*. Dalam penelitian ini senyawa aktif yang diduga mempunyai efek menurunkan kadar asam urat adalah flavonoid. Menurut Coss *et al.* (1998),<sup>15</sup> beberapa senyawa flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan sehingga berpotensi menghambat kerja enzim xantin oksidase dan superoksidase yang berperan dalam pembentukan asam urat dalam darah, seperti yang terdapat pada ekstrak daun *P. betle L.*.

Selain dosis tunggal dari daun *P. betle L.* yang efektif dalam menurunkan asam urat pada penelitian ini, dosis kombinasi menggunakan propolis juga dapat memberikan efek sama baiknya dengan dosis tunggal daun *P. betle L.*. Dosis propolis yang diberikan pada tikus putih jantan berdasarkan penelitian Lulupoy (2010),<sup>16</sup> dimana efek propolis mampu menurunkan kadar trigliserida tikus yang diinduksi diet tinggi lemak pada dosis 50 mg/hari, sedangkan dosis daun *P. betle L.* ditetapkan berdasarkan dosis

empiris. Dosis tersebut kemudian dikonversikan ke dosis tikus sehingga didapat dosis sebesar 10,37 mg/200 gr BB daun *P. betle L.* dan 50 mg/hari propolis (dosis kombinasi).

Antioksidan dapat menghambat atau menyingkirkan jumlah radikal bebas yang berlebihan sehingga mengurangi kerusakan yang terjadi akibat radikal bebas, flavonoid yang terkandung di dalam daun *P. betle L.* dan propolis sebagai antioksidan mampu melindungi DNA dari radikal bebas, sehingga diduga mampu meminimalkan proses terbentuknya asam urat.<sup>18</sup> Pada penelitian ini pemberian ekstrak tunggal daun *P. betle L.* maupun kombinasi dengan propolis dapat menurunkan kadar asam urat tikus putih jantan, sehingga dapat dijadikan alternatif obat untuk menurunkan asam urat.

Data hasil pengukuran kadar ureum darah tikus dalam penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 2. Selanjutnya dianalisis menggunakan metode uji *ANOVA one-way* ( $p < 0,05$ ). Hasil pengujian *post hoc* menggunakan *LSD test* pada kadar ureum menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna antara kelompok tikus putih jantan sampai hari ke-10 ( $p > 0,05$ ). Namun secara deskriptif rata-rata kadar ureum setiap kelompok terdapat perbedaan, hasil tersebut tersaji pada Gambar 2.

Pada penelitian Isniaty (2007),<sup>19</sup> rata-rata kadar ureum tikus sebesar 34,67 mg/dL masih dapat dikatakan normal, sedangkan rata-rata kadar ureum 41,64-62,67 mg/dL dapat dikatakan mengalami gangguan ekskresi fungsi ginjal.<sup>8</sup> Berdasarkan hasil penelitian ini, kadar ureum pada kontrol normal sebesar 34,36 mg/dL, yang menunjukkan kadar ureumnya masih normal. Pada kontrol negatif, terjadi kenaikan kadar ureum sebesar 50,16 mg/dL yang menunjukkan adanya gangguan ekskresi pada ginjal.

Hasil rata-rata kadar ureum tikus yang diberi dosis kombinasi (ekstrak daun *P. betle L.*: propolis (1:1)) sebesar 61,79 mg/dL dan dosis ekstrak daun *P. betle L.* dosis 10,37 mg/200 gr BB sebesar 64,60 mg/dL sudah melebihi rentang normal yang berarti pada kondisi ini sudah mengalami gangguan fungsi ginjal. Pada pemberian ekstrak daun *P. betle L.* dosis 41,48 mg/200 gr BB menunjukkan penurunan sebesar 46,27 mg/dL dibandingkan dengan kontrol negatif, sehingga dengan pemberian ekstrak daun *P. betle L.* dapat dijadikan alternatif obat penurun ureum, sedangkan pemberian allopurinol dosis 1,8 mg/200 gr BB rata-rata kadar ureum sebesar 60,89 mg/dL. Hal ini menunjukkan pemberian allopurinol tidak mampu menurunkan kadar ureum, karena allopurinol adalah obat untuk menurunkan asam urat dan tidak memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar ureum.

## SIMPULAN

Disimpulkan bahwa ekstrak daun *P. betle L.* dosis 41,48 mg/200 grBB dan dosis ekstrak kombinasi dapat menurunkan kadar asam urat, sehingga berpotensi sebagai bahan hipourikemia.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Nmec, P. Current Opinions on Gout, Its Diagnosis and Treatment. *Vnitr Lek.* 2012; 58 (12): 928-37.
2. Soeroso, J. dan Algristian, H. *Asam Urat.* Cetakan I. Depok, Indonesia: Penebar Plus. 2011. Halaman : 14-15
3. Utami, P. dan Lentera, T. *Tanaman Obat untuk Mengatasi Rematik & Asam Urat.* Edisi: Sehat dengan ramuan tradisional. Cetakan pertama. Tangerang. Indonesia: PT AgroMedia Pustaka. 2003. Halaman : 23.
4. Dhoble, A., Vijay B. dan Robert S. Chronic Tophaceous Gout Presenting as Acute Arthritis during an Acute Illness: a Case Report. *Cases J,* 2008; 1: 238.
5. Baker, DL., Stroup JS dan Gilstrap CA. Tophaceous Gout in a Patient with Rheumatoid Arthritis. *J Am Osteopath Assoc,* 2007; 107 (12): 554-6.
6. Dinas Kesehatan Kota Palembang. *Laporan Bulanan Data Kesehatan Januari 2011 Dinas Kesehatan Kota Palembang.* 2011. hal.8.
7. Soeroso, J. dan Algristian, H. *Asam Urat.* Cetakan I. Depok, Indonesia: Penebar Plus. 2011. Halaman : 14-15
8. Lu, F.C. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko* (edisi kedua). Terjemahan Oleh : Nugroho, Edi. Jakarta, Indonesia: Penerbit Universitas Indonesia. 1995. hal. 231. Cetakan pertama 1995.
9. Feig, DI, Kang, DH dan Johnson, RJ. Uric Acid and Cardiovascular Risk. *N Engl J Med,* 2008; 359: 1811-1821.
10. Katno dan Pramono, S. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional.* Laporan Penelitian, Universitas Gajah Mada. 2002. ([http://cintaialam.tripod.com/keamanan\\_obat%20tradisional.pdf](http://cintaialam.tripod.com/keamanan_obat%20tradisional.pdf)). Diakses 3 Maret 2013.
11. Aminah, M.P. *Ajaibnya Terapi Herbal Tumpas Penyakit Asam Urat.* Jakarta Timur, Indonesia: Dunia Sehat. Cetakan I, 2012.
12. Tarigan, J.Br., Zuhra, C.F dan Sihotang, H., *Skrining Fitokimia Tumbuhan yang Digunakan oleh Pedagang Jamu Gendong untuk Merawat Kulit Wajah di Kecamatan Medan Baru.* Jurnal Biologi Sumatera. Universitas Sumatera Utara.

2008. (<http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/17557/1/bio-jan2008-3%20%281%29.pdf>). Diakses 22 Februari 2013.
13. Fadhilah, H. *Pengaruh Fraksi Air Daun Sirih (Piper betle L.) terhadap Kadar Kolesterol Darah pada Tikus Hiperkolesterol dan Hiperkolesterol-Diabetes*. Skripsi, Universitas Andalas. 2012.
  14. Abraham, N.N., Kanthimathi, M.S. dan Abdul-Aziz A. Piper Betle Shows Antioxidant Activities, Inhibits MCF-7 Cell Proliferation and Increases Activities of Catalase and Superoxide Dismutase. *BMC Complement Altern Med*, 2012; 12: 220.
  15. Coss, P., Ying, L., Calomme, M., J.P. Cimanga, K., Van Poel, B., Pieters, L. *et al.* Structure-Activity Relationship and Classification of Flavonoids as Inhibitors of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers. *J Nat Prod*. 1998; 61 (1): 71-6.
  16. Lulupoy, FAI. *Efek Propolis terhadap Penuurunan Kadar Kolesterol Total pada Tikus (Rattus Norvegicus) Galur Wistar Jantan*. Skripsi. Universitas Maranatha. 2010.
  17. Sonlimar, M dan Sarmalina, S. *Effect of Grape (Vitis vinifera L.) Seed on Reducing Serum Uric Acid Level in Gout-Animals Models*. *Majalah Kesehatan PharmaMedika*, 2010; 2 (1): 106-109.
  18. Muraoka, S dan Miura T. Inhibition by Uric Acid of Free Radical that Damage Biological Molecules. *Pharmacol Toxicol*, 2003; 93 (6): 284-9.
  19. Isniaty, D. *Pengaruh Pemberian Aspirin Berbagai Dosis Per Oral terhadap Kadar Ureum dan Kreatinin Serum Tikus Wistar*. 2007. (<http://eprints.undip.ac.id/22597/1/detty.pdf>). Diakses 29 Juni 2013.