

Aktivitas Antimalaria Triterpenoid Pentasiklik dari Daun *Erythrina variegata*

Triterpenoid Pentacyclic Antimalarial Activity from the Leaves of *Erythrina variegata*

Tati Herlina¹⁾, Unang Supratman¹⁾, Anas Urbanas²⁾, Supriyatna Sutardjo²⁾,
Noor Rain Abdullah³⁾, Hideo Hayashi⁴⁾

¹⁾Jurusan Kimia FMIPA Universitas Padjajaran

²⁾Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Padjajaran

³⁾Herbal Medicine Research Center Institute for Medical Research Malaysia

⁴⁾Graduate School of Agriculture and Life Science Osaka Prefecture University Japan

ABSTRACT

In the course of our continuing research for novel antimalarial agent from Indonesian plants, the methanol extract of the *Erythrina variegata* leaves showed significant antimalarial activity against *Plasmodium falciparum* strain K1 *in vitro* with IC₅₀ 6.8 µg/mL. The methanol extract was separated by using variety of chromatography techniques. The chemical structure of an antimalarial compound was determined on the basis of spectroscopic evidence and compared to previous data then this compound is identified as a pentacyclic triterpenoid oleane derivative, namely 3,22,23-trihydroxy-oleane-12-ene. The pentacyclic triterpenoid, 3,22,23-trihydroxy-oleane-12-ene showed antimalarial activity against 3D7 and K1 strains with IC₅₀ 4.3 µg/mL and 24 µg/mL, respectively. These results strongly suggested that *E. variegata* is a promising sources of antimalarial agents.

Keywords: Antimalarial, *Erythrina variegata*, *Plasmodium falciparum*, pentacyclic triterpenoid oleane

PENDAHULUAN

Malaria merupakan suatu penyakit infeksi yang sampai kini masih menjadi masalah kesehatan yang serius dan kompleks yang dihadapi umat manusia pada abad ini. Penyakit ini terutama disebabkan oleh empat spesies parasit protozoa dari jenis *Plasmodium*. Setiap tahun sekitar 130-435 juta manusia di dunia meninggal akibat terinfeksi malaria (Guerra *et al.* 2006). Diperkirakan hampir setengah dari populasi dunia beresiko terinfeksi malaria dan laju kematian tertinggi antara lain terjadi pada anak-anak di bawah umur lima tahun (Saxena *et al.* 2003). Penyakit malaria paling sering terjadi di daerah tropis, daerah beriklim panas dan basah (Shulman *et al.* 1992). Pencegahan dan pengobatan malaria saat ini yaitu klorokuin, namun di beberapa daerah *P. falciparum* ternyata resisten terhadap klorokuin, dan beberapa obat antimalaria sintetik lainnya. Penggunaan klorokuin dapat menimbulkan efek samping pada gangguan pencernaan, gangguan penglihatan, gatal-gatal dan sakit kepala (Sumawinata *et al.* 2003). Oleh karena itu dibutuhkan usaha yang serius untuk mencari

obat antimalaria baru yang berasal dari alam dan yang relatif tidak toksik pada manusia.

Tumbuhan obat Indonesia yang telah banyak digunakan oleh masyarakat dalam pengobatan malaria secara tradisional adalah *E. variegata* (Mursito 2002). *E. variegata* di Indonesia dikenal dengan sebutan dadap ayam (Heyne 1987). Bagian tumbuhan *E. variegata* yang digunakan dalam pengobatan tradisional adalah kulit batang, daun, akar serta biji. Tumbuhan ini dilaporkan mengandung senyawa-senyawa alkaloid (Chawla *et al.* 1988) serta beberapa senyawa golongan flavonoid dan isoflavonoid (Tanaka *et al.* 2000, Sato *et al.* 2003, Herlina *et al.* 2008a).

Dalam penelitian berkelanjutan untuk pencarian obat antimalaria baru yang berasal dari tumbuhan obat Indonesia, Herlina *et al.* (2005a) melaporkan bahwa ekstrak metanol daun *E. variegata* menunjukkan aktivitas antimalaria, selanjutnya hasil isolasi senyawa aktif tersebut diperoleh sebagai senyawa triterpenoid pentasiklik (Herlina *et al.* 2005b). Herlina *et al.* (2007a) melaporkan bahwa senyawa aktif antimalaria diperoleh dari ekstrak etil asetat daun *E. variegata* dan senyawa aktif antimalaria tersebut merupakan

turunan golongan alkaloid serta triterpenoid (Herlina et al. 2007b; 2007c). Herlina et al. (2008b) melaporkan pula hasil uji toksisitas akut dari daun *E. variegata* yang menunjukkan kategori yang aman untuk dikonsumsi dengan nilai LD₅₀ 26,149 g ekstrak/kg berat badan. Hasil penelitian ini memaparkan uji hayati antimalaria isolat dari daun dadap ayam secara *in vitro* terhadap *P. falciparum* strain K1 (resisten klorokuin) dan 3D7 (sensitif klorokuin) menggunakan metode laktat dehidrogenase (LDH) (Najila et al. 2002).

METODE

Pada penelitian ini digunakan metode eksperimen di laboratorium melalui tahapan ekstraksi serbuk daun *E. variegata*, fraksinasi, pemisahan dan pemurnian isolat melalui metode kromatografi kolom cair dan kromatografi lapis tipis, pengujian aktivitas antimalaria secara *in vitro* terhadap *P. falciparum* pada ekstrak, fraksi, dan isolat murni. Selanjutnya dilakukan penentuan struktur kimia senyawa aktif.

Penentuan titik leleh dilakukan pada alat Fischer-John melting point apparatus. Spektrum IR diukur dengan FTIR-Shimadzu series 8400. Spektrum ¹H dan ¹³C-NMR diukur menggunakan spectra JEOL JNM A-500, yang bekerja pada 500 MHz (¹H-NMR) dan 125 MHz (¹³C-NMR) dengan TMS sebagai standar internal. Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) pada plat berlapis Si gel Merck 60 GF₂₅₄.

Pengumpulan bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dadap ayam (*E. variegata*) yang diperoleh dari hutan lindung di daerah Ciater Kabupaten Subang. Bahan ini dideterminasi di laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Sekolah Tinggi Ilmu Hayati, Institut Teknologi Bandung.

Parasit

Parasit yang digunakan adalah *P. falciparum* strain K1 (resisten klorokuin) dan 3D7 (sensitif klorokuin) yang diperoleh dari Institute for Medical Research, Kuala Lumpur, Malaysia.

Ekstraksi dan isolasi

Bagian daun dari *E. variegata* dicuci dan dibiarkan

kering pada suhu kamar, kemudian dihaluskan sampai menjadi serbuk. Serbuk daun *E. variegata* (2 kg) diekstraksi dengan metanol dengan teknik maserasi tiga kali berturut-turut masing-masing 24 jam menghasilkan ekstrak metanol (150 g). Selanjutnya, ekstrak metanol dipartisi dengan diklorometan-air (3:1) menghasilkan fraksi diklorometan (50 g). Fraksi diklorometan ini dilarutkan ke dalam metanol 20% air yang selanjutnya dipartisi berturut-turut ke dalam *n*-heksan dan etil asetat sehingga diperoleh fraksi *n*-

heksan (22 g), fraksi etil asetat (10 g), dan fraksi metanol 20% air sisa (15 g).

Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antimalaria terhadap *P. falciparum*. Fraksi etil asetat (8 g) difraksinasi dengan teknik kromatografi cair vakum (KCV) dengan eluen campuran *n*-heksan-etil asetat secara bergradien, menghasilkan sepuluh fraksi utama. Fraksi utama ke empat (E₄ = 286 mg) difraksinasi lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi kolom tekan (KKT) eluen (*n*-heksan-kloroform-metanol=0,5:9:0,5) dan diperoleh enam fraksi gabungan. Fraksi ke enam (E_{4,6} = 141,8 mg) difraksinasi lebih lanjut dengan KKT menggunakan silika gel G 60 (*n*-heksan-kloroform-etil asetat = 6:1:3), menghasilkan empat fraksi gabungan. Fraksi gabungan ke tiga (E_{4,6,3} = 5,8 mg) dimurnikan dengan KKT menggunakan silika gel GF₂₅₄ (*n*-heksan-kloroform-aseton = 1,5:6:2,5) sehingga menghasilkan 3,22,23-trihidroksiolean-12-ena (5,5 mg).

Uji antimalaria secara *in vitro*

Pengujian dilakukan secara *in vitro* berdasarkan metode LDH yang telah termodifikasi. Kultur 3D7 yang sensitif klorokuin dan K1 yang resisten klorokuin ditambahkan pada medium RPMI 1640 yang mengandung asam *N*-2-hidroksietilpiperazin-*N'*-2-etana-sulfonat (25 mM), natrium bikarbonat (0,2%), dan gentamycin (40 µg/mL) pada pH 7,4 dan sel darah merah dari golongan darah O. Untuk setiap uji LDH, digunakan suspensi darah yang mengandung parasitemia 1% dan haematokrit 2%. Kontrol pembacaan sel darah merah yang terparazit dan tidak terparazit dari ekstrak dan standar menggunakan metode *candle jar* yang diinkubasi selama 48 jam pada 37°C. Setelah 48 jam, ditambahkan 100 µL Malstat (Flow Inc., Portland, OR) dengan cara yaitu sebanyak 25 µL suspensi darah dipindahkan ke dalam pelat yang mengandung campuran Malstat dan NBT.

Pembacaan absorbans pada 630 nm menggunakan ELISA reader (MRX Microplate Reader, Dynex Technologies, USA). Klorokuin dan artemisinin berfungsi sebagai kontrol positif (Najila et al. 2002). Prosentase inhibisi parasit ditentukan dengan menghitung IC₅₀ menggunakan analisis Grafit (Grafit v.4.09, Erithacus Software Limited).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji aktivitas antimalaria ekstrak metanol daun *E. variegata* secara *in vitro* terhadap *P. falciparum* menunjukkan nilai IC₅₀ 6,8 µg/mL terhadap strain K1. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa daun *E. variegata* tergolong ke dalam aktivitas antimalaria yang sedang-tinggi, menurut Tabel *Thresholds for in vitro antiplasmodial activity of antimalarial*

extract (Rasoanaivo *et al.* 2004). Hal ini membuktikan kebenaran bahwa daun *E. variegata* yang selama ini secara tradisional digunakan sebagai pengobatan antimalaria (Heyne 1987, Mursito 2002). Hasil uji antimalaria secara *in vitro* hasil fraksinasi menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan tidak aktif, sedangkan fraksi etil asetat daun *E. variegata* memberikan nilai IC_{50} 17 $\mu\text{g/mL}$ terhadap *P. falciparum* strain 3D7 dan IC_{50} 27 $\mu\text{g/mL}$ terhadap strain K1. Selanjutnya, dilakukan pemisahan dan pemurnian senyawa aktif dari fraksi etil asetat, diperoleh 3,22,23-trihidroksiolean-12-ena yang menunjukkan nilai IC_{50} 4,3 $\mu\text{g/mL}$ terhadap *P. falciparum* strain 3D7 dan IC_{50} 24 $\mu\text{g/mL}$ terhadap strain K1. Sebagai kontrol positif digunakan klorokuin dan artemisinin (Tabel 1). Senyawa aktif tergolong ke dalam aktivitas antimalaria yang sedang-tinggi (IC_{50} 4,3 $\mu\text{g/mL}$) terhadap *P. falciparum* strain 3D7 (sensitif klorokuin) dan aktivitas antimalaria yang lemah (IC_{50} 24 $\mu\text{g/mL}$) terhadap strain K1 (resisten klorokuin) menurut Tabel *Thresholds for in vitro antiplasmodial activity of antimalarial extract* (Rasoanaivo *et al.* 2004).

Tabel 1. IC_{50} ekstrak metanol, fraksi etil asetat, dan isolat dari daun *E. variegata* terhadap *P. falciparum* strain 3D7 dan K1.

Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
	3D7	K1
Ekstrak metanol	> 60	6,8
Fraksi etil asetat	17	27
Triterpenoid pentasiklik 3,22,23-trihidroksiolean-12-ena	4,3	24
Klorokuin	0,04	0,04
Artemisinin	0,01	0,01

Senyawa triterpenoid pentasiklik 3,22,23-trihidroksiolean-12-ena (senyawa aktif) diperoleh berupa kristal jarum tak berwarna dengan titik leleh 239-240°C. Senyawa aktif tersebut memiliki rumus molekul $C_{30}H_{50}O_3$ berdasarkan data ^1H -dan ^{13}C -NMR, sehingga mempunyai nilai ekivalensi ikatan rangkap (DBE) sebesar enam. Spektrum inframerah dari senyawa ini menunjukkan adanya serapan yang kuat pada bilangan gelombang 3225 cm^{-1} dari regangan ulur gugus O-H, diikuti dengan serapan pada bilangan gelombang 1039 yang merupakan regangan ulur dari gugus C-O alkohol primer dan sekunder. Pada bilangan gelombang 2941 cm^{-1} terdapat serapan yang

sangat kuat dari regangan ulur gugus C-H alifatik dari CH_2 diikuti dengan serapan pada 1458 cm^{-1} yang merupakan tekukan C-H alifatik dari CH_2 dan 1381 cm^{-1} tekukan C-H alifatik dari CH_3 yang khas untuk golongan triterpenoid (Mathias *et al.* 2000).

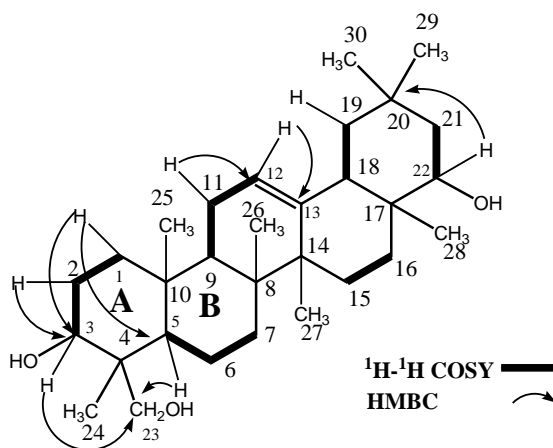
Pada bilangan gelombang 1665 cm^{-1} terdapat regangan ulur C=C alifatik dengan intensitas lemah diikuti serapan pada bilangan gelombang pada 723,3 cm^{-1} dengan intensitas kuat dan tajam yang merupakan karakteristik dari tekukan ke dalam bidang gugus C-H rangkap dua (=C-H) siklik. Spektrum ^{13}C -NMR DEPT memperlihatkan adanya tiga puluh sinyal yang terdiri dari duapuluh delapan atom karbon sp^3 dan dua atom karbon sp^2 . Tigapuluh sinyal tersebut terdiri tujuh atom karbon metil, sepuluh atom karbon metilen, enam atom karbon metin, dan tujuh atom karbon kuartener. Adanya tujuh atom karbon kuartener merupakan karakteristik untuk kelompok senyawa triterpenoid dengan kerangka struktur pentasiklik (Nakanishi 1990) yang didukung oleh nilai enam DBE dan satu ikatan rangkap. Selain itu, di antara tigapuluh sinyal tersebut terdapat tiga atom karbon teroksidasi yang terdapat pada geseran kimia δ_{C} 81,0 (C-3), 76,8 (C-22) dan 64,7 (C-23) dan satu pasang atom karbon vinilik pada geseran kimia δ_{C} 122,4 (C-12) dan 144,0 (C-13) yang khas untuk atom C-12 dan C-13 dari senyawa triterpen pentasiklik golongan olean (Mathias *et al.* 2000 & Debella *et al.* 2000).

Spektrum ^1H -NMR menunjukkan adanya tujuh sinyal singlet dari gugus metil pada geseran kimia δ_{H} 1,24 (H-24); 0,89 (H-25); 0,94 (H-26); 1,11 (H-27); 0,86 (H-28); 0,91 (H-29) dan 1,03 (H-30). Untuk menentukan korelasi proton-proton dan proton-karbon pada senyawa aktif tersebut maka dilakukan pula analisis terhadap spektrum ^1H - ^1H COSY dan HMBC. Spektrum ^1H - ^1H COSY senyawa aktif menunjukkan adanya korelasi antara H-2 (δ_{H} 1,71) yang berkorelasi dengan H-1 (δ_{H} 1,66) dan H-3 (δ_{H} 3,44), H-6 (δ_{H} 1,47) berkorelasi dengan H-7 (δ_{H} 1,64) serta H-5 (δ_{H} 1,04), dan H-11 (δ_{H} 1,85) berkorelasi dengan H-12 (δ_{H} 5,23) dan H-9 (δ_{H} 1,52). Korelasi ^1H - ^1H dan ^1H - ^{13}C pada kerangka senyawa triterpen ini dapat dilihat pada Gambar 1.

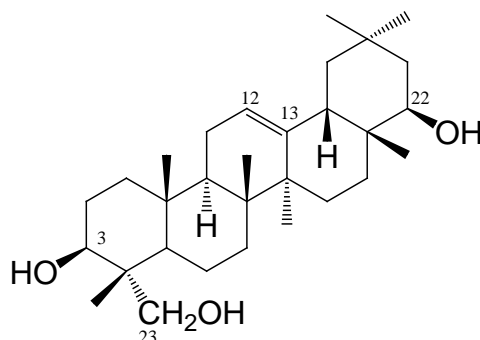
Analisis spektrum ^1H -NMR juga memperlihatkan adanya penjodohan geminal pada geseran kimia δ_{H} 1,66 ppm dengan δ_{H} 0,96 ppm ($J = 13,6$ Hz; H-1_a) dan proton pada geseran kimia δ_{H} 1,71 ($J = 13,6; 6,8$ Hz; H-2_a

dan H-2_b). Proton dengan geseran kimia δ_H 1,47 ($J = 12,8$ Hz; H-7) mengalami penjodohan visinal dengan proton pada geseran kimia δ_H 1,64 ($J = 8,4$ Hz; H-6). Pola penjodohan tersebut merupakan karakteristik dari proton yang berada pada cincin A dan B dari senyawa triterpenoid. Hal ini didukung pula oleh spektrum HMBC yang menunjukkan adanya korelasi antara H-1 (δ_H 1,66) dengan C-3 (δ_C 81,0) dan C-5 (δ_C 60,0) yang menunjukkan bahwa posisi gugus OH adalah pada C-3. Selain itu, H-2 (δ_H 1,71) berkorelasi dengan C-3 (δ_C 81,0) dan H-3 berkorelasi dengan C-23 (δ_C 64,7), dan terdapat pula korelasi antara H-5 (δ_H 0,84) dengan C-23 (δ_C 64,7). Korelasi antara H-11 (δ_H 1,85) dengan C-12 (δ_C 122,4)

menunjukkan bahwa ikatan rangkap terletak pada posisi C-12 dan C-13. Tabulasi data NMR dari senyawa triterpen ini ditunjukkan pada Tabel 2. Berdasarkan data spektra yang diperoleh dan dibandingkan dengan data penelitian sebelumnya (Barreiros *et al.* 2002; Okada *et al.* 2003 & Tanaka *et al.* 2003) serta pendekatan biogenesis senyawa turunan triterpen maka struktur dari senyawa aktif ditetapkan sebagai triterpenoid pentasiklik 3,22,23-trihidroksiolean-12-en (Gambar 2). Senyawa triterpenoid pentasiklik 3,22,23-trihidroksiolean-12-en merupakan senyawa yang pertama kali ditemukan pada *E. variegata*.



Gambar 1. Korelasi $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY dan HMBC senyawa aktif.



Gambar 2. Struktur triterpenoid pentasiklik 3,22,23-trihidroksiolean-12-ena.

Tabel 2. Data ^1H dan ^{13}C NMR senyawa aktif dalam CDCl_3 .

Posisi C	^{13}C -NMR δ_{C} (ppm)	DEPT	^1H -NMR δ_{H} (ppm), [multi., J (Hz)]	HMBC ^1H ke ^{13}C	^1H - ^1H COSY
1	38,5	CH_2	1,66 (1H, td, 13,6; 4,3) 0,96 (1H, td, 13,6; 4,3)	C-3, C-5	H-2
2	27,8	CH_2	1,71 (1H, dd, 13,6; 6,8) 1,67 (1H, m)	C-3	H-1, H-3
3	81,0	CH	3,44 (1H, m)	C-23	H-2
4	42,9	Cq	-	-	-
5	60,0	CH	0,84 (1H, t, 3,05)	C-23	H-2
6	33,2	CH_2	1,47 (1H, td, 3,6; 12,8) 1,35 (1H, m)	-	H-5, H-7
7	18,6	CH_2	1,64 (1H, d, 11,6) 1,61 (1H, dd, 8,4; 3,3)	-	H-6
8	39,8	Cq	-	-	-
9	47,8	CH	1,52 (1H, t, 7,9)	C-5, C-8, C-18, C-14	H-11
10	36,8	Cq	-	-	-
11	23,9	CH_2	1,85 (1H, td, 3,1; 6,8) 1,81 (1H, m)	C-12	H-9, H-12
12	122,4	CH	5,23 (1H, t, 3,7)	C-9, C-13, C-18	H-11
13	144,0	Cq	-	-	-
14	42,2	Cq	-	-	-
15	26,0	CH_2	1,73 (1H, m) 1,29 (1H, td, 3,65; 12,8)	-	H-16
16	28,3	CH_2	1,65 (1H, m) 1,19 (1H, m)	-	H-15
17	33,2	Cq	-	-	-
18	44,9	CH	2,09 (1H, br d, 11,7)	-	H-19
19	46,3	CH_2	1,74 (1H, m) 1,01 (1H, m)	C-13, C-20, C-17	H-18
20	30,7	Cq	-	-	-
21	41,6	CH_2	1,43 (2H, d, 4,9)	C-17, C-19, C-20, C-22	H-22
22	76,8	CH	3,43 (1H, t, 4,9)	C-20	H-21
23	64,7	CH_2	4,20 (1H, d, 11,0) 3,34 (1H, br d, 6,75)	C-24	-
24	22,6	CH_3	1,24 (3H, s)	C-3, C-4, C-5	-
25	16,3	CH_3	0,89 (3H, s)	C-1, C-5, C-10	-
26	17,0	CH_3	0,94 (3H, s)	C-6, C-9, C-14	-
27	25,7	CH_3	1,11 (3H, s)	C-8, C-13, C-14, C-15	-
28	20,2	CH_3	0,86 (3H, s)	C-16, C-17, C-18, C-19, C-22	-
29	32,9	CH_3	0,91 (3H, s)	C-20, C-21, C-19, C-30	-
30	28,3	CH_3	1,03 (3H, s)	C-19, C-20, C-21	-

KESIMPULAN

Satu senyawa triterpenoid pentasiklik yaitu 3,22,23-trihidroksiolean-12-ena telah diisolasi dari daun *E. variegata* dan memiliki aktivitas antimalaria yang tergolong ke dalam aktivitas sedang-tinggi (IC_{50} 4,3 $\mu\text{g/mL}$) terhadap *P. falciparum* strain 3D7 yang sensitif klorokuin dan aktivitas antimalaria lemah (IC_{50} 24 $\mu\text{g/mL}$) terhadap strain K1 yang resisten klorokuin.

Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi atas dana yang diberikan melalui Penelitian Hibah

Bersaing Tahun Anggaran 2007, Proyek I-MHERE Unpad Tahun Anggaran 2007, dan Program Insentif Riset Dasar, Menristek Tahun Anggaran 2007.

DAFTAR PUSTAKA

- Barreiros ML, Jorge MD, Pedro A, Pereira P, Maria LS, Guedes & Juceni PD. 2002. Fatty Acid Esters of Triterpenes from *Erythroxylum passerinum*. *Journal of Brazil Chemistry Society*. **5**: 669-673.
- Chawla AS, Krishnan TR, Jackson AH, Scalabrin DA, Stuttgart & Thieme Verlag WG. 1988. Alkaloidal Constituents of *Erythrina variegata* Bark. *Planta medica*. **6**: 526-528.

- Debella A, Ernst H, Martin G, Schmid, Franz, B, Michl G, Dawit A & Olaf K. 2000. Triterpenoid Saponins and Sapogenin Lactones from *Albizia gummifera*. *Phytochemistry*. **53**: 885-892.
- Guerra CA, Snow RW & Hay SI. 2006. Mapping The Global Extent of Malaria in 2005. *Trends Parasitol*. **22**:353-358.
- Herlina T, Agustono, Muis A, Supratman U, Subarnas A, Sutardjo S, Syafruddin & Hayashi H. 2005a. *Aktivitas antimalaria dari daun Erythrina variegata (Leguminosae)*. *Proceeding Seminar Kebudayaan Indonesia-Malaysia IX, Universitas Padjadjaran. Bandung 10 – 12 Mei 2005*.
- Herlina T, Muis A, Supratman U, Syafruddin, Subarnas A, Sutardjo S & Hayashi H. 2005b. Senyawa Bioaktif dari *Erythrina variegata* (Leguminosae). *Berkala Ilmiah MIPA*. **3**: 21-26.
- Herlina T, Supratman U, Subarnas A & Sutardjo S. 2007a. *Aktivitas Antimalaria dari Dadap Ayam (Erythrina variegata)*. *Majalah Kedokteran Bandung*. **1**: 9-14.
- Herlina T, Supratman U, Subarnas A, Sutardjo S & Abdullah NR. 2007b. *Antimalarial Activity from The Leaves of Dadap Ayam (Erythrina variegata)*. *Jurnal Kedokteran YARSI*. **2**: 87-92.
- Herlina T, Supratman U, Subarnas A, Sutardjo, S & Abdullah NR. 2007c. *Aktivitas Antimalaria dari Daun Erythrina variegata*. *Jurnal Natur Indonesia*. **1**: 36-41.
- Herlina T, Nasrudin, Supratman U, Subarnas A, Sutardjo S & Hayashi H. 2008a. An Isoflavonoid, Warangalone from The Stem Bark of Dadap Ayam (*Erythrina variegata*). *Jurnal Ilmu Dasar*. **1**: 45-47.
- Herlina T, Nurlelasari, Maharani R, Supratman U, Subarnas A, Sutardjo S, Syafruddin, Abdullah NR & Hayashi H. 2008b. *Antimalarial Activity and Acute Toxicity from The Leaves of Erythrina variegata*. *Proceeding Seminar Indonesian Students' Scientific Meeting (ISSM 2008), "Sustainable development in Indonesia: An interdisciplinary Approach"*. May 13-15. Delft, The Netherlands. 272-274.
- Heyne. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid II, diterjemahkan oleh Badan Libang Kehutanan Jakarta. Yayasan Sarana Warna Jaya. Jakarta.
- Mathias L, Ivo JC, Raimundo VB & Filho ER. 2000. A New Pentacyclic Triterpene Isolated from *Myroxylon balsamum* (syn. *Myroxylon peruiiferum*). *Journal of Brazil Chemistry Society*. **2**: 195-198.
- Mursito B. 2002. *Ramuan Tradisional untuk Penyakit Malaria*, Cetakan Pertama, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Najila MJS, Rain NA, Kame AGM, Zahir SIS, Khozirah S, Hakim SL, Zakiah I & Azizol AK. 2002. The Screening of Extract from *Goniothalamus scortechinii*, *Aralidium pimatifidum* and *Andrographis paniculata* for Anti-malarial Activity using The Lactate Dehydrogenase Assay. *Journal of Ethnopharmacology*. **82**: 239-242.
- Nakanishi K. 1990. *One and Two-dimensional NMR Spectra by Modern Pulse techniques*. Kodensha Tokyo.
- Okada Y, Ayako O & Toru O. 2003. A New Triterpenoid Isolated from *Lagerstronemia speciosa* (L.) pers. *Chem. Pharm. Bull.* **4**: 452-454.
- Rasoanaivo P, Dehar OE, Ratsimamanga-Urverg & Frappier F. 2004. *Guidelines for The Nonclinical Evaluation of The Efficacy of Traditional Antimalarials*. In : *Traditional Medicinal Plants and Antimalaria*. CRC Press. USA 256-268.
- Sumawinata IW, Bernadeta BL, Awalludin S, Purnomo B, Subianto S, Fryauff DJ & Baird JK. 2003. Very High Risk of Therapeutic Failure with Chloroquine for Uncomplicated *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* Malaria in Indonesian Papua. *Am J Trop Med Hyg*. **68**:416-420.
- Sato M, Tanaka H, Fujiwara S, Hirata M, Yamaguchi R, Etoh H & Tokuda C. 2003. Antibacterial Property of Isoflavonoids Isolated from *Erythrina variegata* Against Cariogenic Oral Bacteria. *Phytomedicine*. **5**: 427-433.
- Saxena S, Neerja P, Jain DC & Bhakuni RS. 2003. Antimalarial Agents from Natural Sources. *Current Science*. **9**: 1314-1329.
- Shulman ST, John PD & Herbert MS. 1992. *Dasar Biologi dan Klinis Penyakit Infeksi*. Penerjemah: Soeprapto, S. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Indonesia.
- Tanaka H, Etoh H, Shimizu H, Makita T & Tateishi Y. 2000. Two New Isoflavonoids from *Erythrina variegata*. *Planta Medica*. **6**: 578-579
- Tanaka H, Oh-Uchi T, Etoh H, Sako M, Sato M, Fukai T & Tateish Y. 2003. An Arylbenzofuran and Four Isoflavonid from The Root of *Erythrina poeppigiana*. *Phytochemistry* .**63**: 597-602.
- Trigg PI & Kondrachine AV. 1988. *The Current Global Malaria Situation*, In Irwin W. Sherman. *Malaria Parasite Biologi. Patogenesis and Protection*. ASM Press. Washington. DC.