

**ISOLASI DAN UJI PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS
DPPH OLEH ISOLAT-1, FRAKSI ETIL ASETAT,
DAN EKSTRAK ETANOL AKAR PASAK BUMI
(*Eurycoma longifolia* Jack)**

**ISOLATION AND FREE RADICALS SCAVENGING
ACTIVITY OF ISOLATE-1, ETHYL ACETATE
FRACTION, AND ETHANOLIC EXTRACT OF
PASAK BUMI (Eurycoma longifolia Jack) ROOT**

Laela Hayu Nurani

*Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta
Jl. Prof Dr. Supomo, Yogyakarta. Telp. (0274) 379418
Email : laelafarmasi@gmail.com*

Abstrak

*Radikal bebas dihasilkan pada waktu menjalankan proses-proses metabolit atau melawan infeksi maupun sewaktu tubuh mencerna makanan. Radikal bebas yang tidak stabil dapat dinetralkan dengan antioksidan. Akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) diketahui mengandung senyawa flavonoid, yang diketahui mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan aktivitas penangkapan radikal bebas fraksi air dan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Akar pasak bumi diekstraksi dengan etanol 70% menggunakan maserasi. Ekstrak etanol dilarutkan dalam etil asetat, fraksinasi dengan etil asetat sehingga diperoleh fraksi etil asetat. Konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi etil asetat yang digunakan adalah 2; 4; 8; 16 ug/mL dan isolat-1 yaitu: 0,8; 1,6; 3,2; dan 6,4 ug/mL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua perlakuan mempunyai aktivitas sebagai penangkap radikal bebas. Hasil analisis statistika dengan metode Kruskal Wallis pada taraf kepercayaan 95% yang dilanjutkan dengan uji Mann whitney menunjukkan adanya perbedaan aktivitas penangkapan radikal bebas yang signifikan antara masing-masing kelompok perlakuan. Kesimpulan dari penelitian ini adalah diperolehnya harga ES_{50} ekstrak etanol (15,64 ug/mL) lebih besar daripada fraksi etil asetat (13,948 ug/mL) lebih besar daripada isolat 1 (3,961).*

Kata kunci: *Eurycoma longifolia* Jack., radikal bebas, DPPH.

Abstract

*The free radical was produced when undertaking processes metabolit or opposed infection and when the body dissolved food. The unstable free radical could be neutralised with antioxidant. The root of the pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) was known contained the compound flavonoid, that it was known had the activity as antioxidant. This research aimed at knowing the activity capacity of the capture of the free radical the water fraction and the faction ethyl acetate fraction the extract ethanol of the root of the pasak bumi by using the DPPH method.*

The root of the pasak bumi was extracted with ethanol 70% used maceration. The ethanolic extract was dissolved in ethyl acetate, fractination with ethyl acetate so as to be received by the fraction ethyl acetate. The concentration of the ethanolic extract and the fraction of ethyl acetate that was used were 2; 4; 8; 16 ug/mL and isolat-1 that is: 0.8; 1.6; 3.2; and 6.4 ug/mL.

Results of the research showed that all the treatments had the activity as scavenging the free radical. Results of the analysis statistika with the Kruskal Wallis method in the level of the confident 95% that was followed by the test Mann Whitney showed the existence of the difference of the activity of the capture of the free radical who was significant between respectively the treatment group. The conclusion from this research was the value ES_{50} ethanolic extract (15.64 ug/mL) bigger than the faction ethyl acetate fraction and higher (13.948 ug/mL) value of ethanolic extract was than isolat 1 (3.961 μ g/mL).

Key words : *Eurycoma longifolia* Jack., free radical, DPPH.

PENDAHULUAN

Penyakit yang timbul dari radikal bebas, umumnya adalah penyakit degeneratif, penuaan dini, dan peradangan. Radikal bebas juga dapat menyerang inti sel sehat yang kemudian dapat bermutasi menjadi sel tumor atau kanker. Pada dinding pembuluh darah, radikal bebas dapat menyebabkan peradangan yang mengakibatkan penyakit jantung koroner. Radikal bebas dalam pembuluh darah dapat menyebabkan penyakit hipertensi dan stroke. Sebenarnya dalam jumlah yang sedikit, radikal bebas bermanfaat untuk membunuh kuman atau virus. Namun jika berlebih, radikal bebas disejajarkan dengan racun. Selain berasal dari metabolisme tubuh, radikal bebas tersebut juga dapat berasal dari lingkungan luar, seperti zat polutan, makanan berpengawet, atau makanan tinggi kadar gula dan garam.

Pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) adalah salah satu tanaman yang telah digunakan sebagai obat untuk detoksikasi, antioksidan radikal bebas, serta antikanker (Ang, 2002; Sangat, 2000). Data ilmiah tentang mekanisme antikanker *E. longifolia* secara laboratoris baik secara *in vitro* maupun *in vivo* masih sangat terbatas. *Eurycoma longifolia* telah digunakan untuk sebagai antioksidan, obat malaria, penambah stamina, antikanker, dan aprodisiaka. Senyawa yang terkandung dalam *E. longifolia* adalah kuasinoid (Bedir, *et.al*, 2003; Ang, *et al.*, 200) serta alkaloid 9-metoksisantin- 6-on (Nurhanan, *et al.*, 2005 ; Tan *et al.*, 2002), flavonoid (Nurani, 2008). alkaloid canthinone (Choo and Chan, 2002).

Ekstrak metanol akar *E. longifolia* Jack mempunyai aktivitas terhadap *P. falciparum*, sitotoksik (Ang, *et al*, 1995), anti-HIV (Kuo, 2004), serta sebagai *plant growth inhibitor* (Jiwajinda, *et al.*, 2001). Ekstrak metanol, n-butanol, kloroform, dan air dari akar pasak bumi sudah diuji efek sitotoksitasnya dengan MTT menggunakan sel KB, DU-145, RD, MCF-7, CaOV-3, dan MDBK. Semua ekstrak kecuali ekstrak air mempunyai efek sitotoksik terhadap semua sel kanker tersebut (Nurhanan, *et al.*, 2005). Ekstrak etanol mempunyai potensi yang besar sebagai sitotoksitas dan antiproliferatif terhadap sel T47D dibandingkan ekstrak kloroform, dan air (Nurani, *et al.*, 2008). Ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan isolat-1 terhadap sel T47D telah dilaporkan mempunyai aktivitas sitotoksik dengan IC₅₀ berturut-turut sebesar 83 µg/ml; 84 µg/ml; serta 6 µg/ml.

Data yang akan diungkap dari penelitian ini penting artinya untuk memberi landasan yang kuat dan rasional pada penggunaan preparat tanaman tersebut sebagai antioksidan. Hal ini didasarkan pada kenyataan bahwa banyak penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas yang terus meningkat dan memerlukan biaya terapi yang sangat mahal.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan untuk pembuatan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi adalah peralatan gelas, neraca, kompor listrik, blender, elektrik stirer, corong pisah, corong Buchner.

Alat yang digunakan untuk isolasi fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi adalah chamber, pipet volume, corong pisah, labu ukur.

Alat untuk uji antioksidan adalah spektrofotometer UV Vis.

Bahan

Bahan yang digunakan untuk pembuatan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi merupakan bahan-bahan berkualitas teknis, yaitu: aquadestilata, etanol, etil asetat.

Bahan yang digunakan untuk isolasi fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi kecuali dinyatakan lain merupakan bahan-bahan berkualitas pro analisis, yaitu: etanol 70%, etil asetat, asam asetat 15%, selulosa, kertas whatmann, metanol, butanol.

Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman.

Kegiatan ini bertujuan untuk menghindari kesalahan penggunaan bahan. Tanaman *E. longifolia* yang digunakan dalam penelitian dideterminasi di Laboratorium Farmakognosi, Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UAD. Tanaman pasak bumi dideterminasi dengan pedoman buku Flora of Java (Becker and Van de Brink, 1965 dalam Sangat, 2000) untuk mengetahui kebenaran tanaman tersebut.

2. Ekstraksi

Dua ratus lima puluh gram akar *Eurycoma longifolia*, Jack. (*E. longifolia*, Jack.), dimaserasi menggunakan larutan penyari etanol 70% sebanyak 2 liter,

proses maserasi dioptimalkan dengan pengadukan menggunakan elektrik stirer selama 1 jam, kemudian dilakukan pendiaman selama 24 jam dalam suhu kamar. Filtrat diperoleh dengan penyaringan menggunakan corong Buchner, sehingga diperoleh maserat I.

Ampas dari penyarian pertama dimaserasi lagi dengan menggunakan etanol 70% sebanyak 1 liter, sehingga diperoleh maserat II dan III. Ekstrak cair etanol diuapkan dengan penangas air sampai didapat ekstrak kental.

3. Fraksinasi

Ekstrak etanol kemudian difraksinasi dengan etil asetat. Senyawa yang larut dalam etil asetat dipisahkan yang disebut fraksi etil asetat dan senyawa yang tidak larut dalam etil asetat kemudian disebut sebagai fraksi tidak larut etil asetat. Penambahan etil asetat dilakukan sampai warna kuning dari fraksi etil asetat hilang atau kuning pucat, kemudian dianalisis dengan kromatografi kertas.

4. Isolasi

Isolasi senyawa dari fraksi larut etil asetat dilakukan dengan metode kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan adalah selulosa, fase gerak yang digunakan adalah asam asetat 15%.

5. Uji antioksidan

a) Penentuan *operating time*.

Masing-masing 1,0 ml larutan sampel dan eurycomanon dikocok dengan 1,0 ml larutan DPPH 0,15 mM, kemudian diamati absorbansinya

selama 60 menit pada panjang gelombang 517 nm.

b) Penentuan Panjang Gelombang Serapan maksimum

Penentuan panjang gelombang (λ) serapan maksimum larutan DPPH dilakukan sebagai berikut: 1,0 ml larutan DPPH 0,15 mM ditambah 1,0 ml etanol absolut, dikocok homogen, diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 400-600 nm.

c) Pengukuran absorbansi penangkap radikal bebas dengan metode DPPH

Masing-masing 1,0 ml ekstrak, fraksi, dan isolat akar pasak bumi dan larutan perbandingan dengan berbagai konsentrasi dikocok kuat dengan 1,0 ml larutan DPPH 0,15 mM. Campuran larutan tersebut disimpan ditempat gelap selama *operating time*. Kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang serapan maksimal DPPH dengan spektrofotometer UV-Vis. Larutan blanko digunakan adalah etanol absolut.

d) Analisis Data

Data yang diperoleh adalah % *Effective Scavenging* dan konsentrasi senyawa uji kemudian diolah menggunakan analisis regresi linear untuk mendapatkan konsentrasi penangkapan radikal 50 % (ES_{50}).

Persen penangkap radikal bebas sampel =

$$\left(\frac{\text{Absorbansi kontrol negatif} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol negatif}} \right)$$

x 100%

Harga persen penangkap radikal bebas yang diperoleh, masing-masing dihitung persamaan garis regresi untuk selanjutnya ditentukan harga ES_{50} . Data yang diperoleh berupa ES_{50} kemudian dianalisis secara statistik dengan kepercayaan 95% menggunakan uji t.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas penangkapan radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) berdasarkan kemampuan bahan uji dalam mereduksi atau menangkap radikal DPPH yang dapat dilihat dari berkurangnya warna ungu dari larutan DPPH. Pengurangan intensitas warna larutan DPPH tersebut dihasilkan oleh bereaksinya molekul radikal DPPH dengan satu atom hidrogen yang dilepaskan oleh komponen bahan uji sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil yang berwarna kuning. Berkurangnya intensitas warna ungu dari larutan DPPH menunjukkan potensi ekstrak etanol dan fraksi etil asetat dalam menangkap radikal DPPH. Secara kuantitatif dapat dihitung dengan berkurangnya absorbansi larutan tersebut. Pada dasarnya absorbansi yang terukur adalah absorbansi sisa DPPH dalam larutan yang tidak ditangkap oleh senyawa penangkap radikal bebas. Semakin besar konsentrasi larutan bahan uji maka absorbansi yang dihasilkan semakin kecil, berarti aktivitasnya sebagai penangkap radikal bebas semakin besar.

Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimal, yaitu panjang gelombang dimana terjadi absorbansi maksimal. Karena pada panjang gelombang tersebut perubahan serapan untuk setiap satuan konsentrasi adalah paling besar,

sehingga akan diperoleh kepekaan analisis yang maksimal. Panjang gelombang serapan maksimal ekstrak etanol adalah 531,5 nm, fraksi etil asetat 513 nm, dan isolat-1 512 nm. Panjang gelombang serapan maksimal adalah panjang gelombang maksimal DPPH yang masih tersisa dalam larutan. Panjang gelombang ekstrak etanol lebih panjang dibandingkan fraksi etil asetat dan isolat 1 disebabkan pengaruh pelarut yang digunakan. Ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan isolat 1 menggunakan pelarut etanol. Karena pelarut air lebih polar dibandingkan etanol sehingga dapat menggeser panjang gelombang serapan maksimal molekul yang mengalami transisi ke panjang gelombang yang lebih panjang, yaitu molekul yang mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi. Pergeseran panjang gelombang oleh pelarut air ini terjadi karena interaksi dipol-dipol molekul DPPH yang tereksitasi dengan molekul air.

Spektra kontrol negatif dibandingkan dengan spektra larutan uji (senyawa uji ditambah larutan DPPH), hal ini bertujuan untuk memastikan bahwa absorbansi yang terukur adalah absorbansi DPPH yang tersisa dalam larutan. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa spektra ekstrak etanol dan fraksi etil asetat dengan penambahan DPPH menghasilkan puncak serapan maksimum yang hampir sama dengan kontrol negatifnya sedangkan panjang gelombang maksimum isolat 1 sama dengan kontrol negatifnya. Sehingga dapat disimpulkan bahwa absorbansi yang terukur adalah absorbansi DPPH yang masih tersisa dalam larutan. Pengukuran panjang gelombang juga

perla dilakukan pada bahan uji tanpa penambahan larutan DPPH untuk mengetahui bahwa absorbansi yang terukur pada larutan uji dengan penambahan DPPH adalah hanya absorbansi DPPH yang masih tersisa dalam larutan uji dan tidak ada senyawa lain yang terbaca serapannya. Dari data yang diperoleh menunjukkan tidak ada puncak pada panjang gelombang yang sama dengan panjang gelombang maksimum larutan DPPH.

Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antioksidan terlebih dahulu dilakukan orientasi untuk menentukan konsentrasi larutan DPPH serta konsentrasi larutan bahan uji yang dapat terbaca absorbansinya, sehingga dapat ditentukan aktivitas antioksidan. Hasil optimasi konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi etil asetat yang dapat terbaca absorbansinya jika dicampur dengan larutan DPPH tersebut adalah 2; 4; 6; 8 $\mu\text{g/ml}$ dan konsentrasi isolat 1 adalah 0,8; 1,6; 3,2; 6,4 $\mu\text{g/ml}$. dan perbandingan jumlah larutan uji dengan DPPH adalah 2 ml : 0,5 ml.

Absorbansi yang diperoleh dari pengukuran tersebut digunakan untuk menghitung persen penangkapan radikal bebas, yaitu dengan pengurangan absorbansi larutan kontrol negatif dengan absorbansi larutan bahan uji dibagi dengan absorbansi kontrol negatif. Absorbansi kontrol negatif menunjukkan jumlah total DPPH dalam larutan. Persen penangkapan radikal bebas tersebut menggambarkan banyaknya radikal bebas DPPH yang ditangkap atau direduksi oleh senyawa dalam larutan uji. Hasil perhitungan persen penangkapan radikal DPPH oleh ekstrak etanol, fraksi etil asetat ekstrak etanol

Tabel I. Persen penangkapan radikal DPPH oleh ekstrak etanol dan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi

Perlakuan	Persen penangkapan radikal DPPH pada berbagai konsentrasi			
	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	16 µg/ml
Rerata ± SD Ekstrak etanol	16,87±1,64	21,89±1,28	35,64±2,04	49,48±3,83
CV	9,74%	5,85%	5,71%	7,74%
Rerata ± SD fraksi etil asetat	12,00±0,58	19,75±1,90	33,40±1,49	55,53±1,32
CV	4,87%	9,64%	4,42%	2,37%

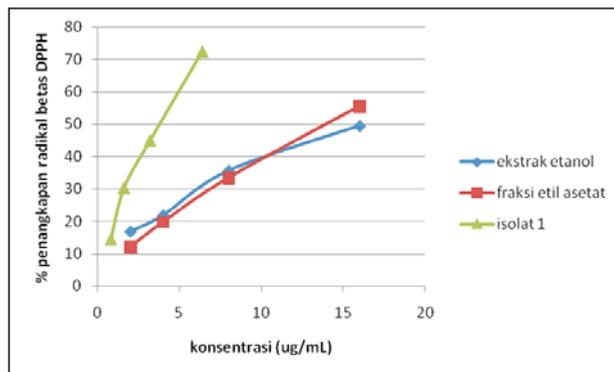
Tabel II. Persen penangkapan radikal DPPH oleh isolat 1 ekstrak etanol

Perlakuan	Persentase penangkapan radikal DPPH pada berbagai konsentrasi			
	0,8 µg/ml	1,6 µg/ml	3,2 µg/ml	6,4 µg/ml
Rerata ±SD isolat-1	14,57±1,28	30,34±1,62	44,95±2,62	72,40±1,52
CV	8,80%	5,33%	5,83%	2,09%

akar pasak bumi dan isolat 1 dapat dilihat pada Tabel I dan II.

Semakin besar konsentrasi fraksi, terlihat aktivitas penangkapan radikal

bebas juga semakin meningkat. Diagram persen penangkapan radikal DPPH oleh ekstrak etanol, fraksi etil asetat akar pasak bumi dan isolat 1 dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan isolat 1 akar pasak bumi terhadap persen penangkapan radikal bebas DPPH

Penentuan potensi aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan isolat 1 dinyatakan dengan parameter ES_{50} yaitu konsentrasi senyawa uji yang menyebabkan penangkapan radikal bebas sebesar 50%. Harga ES_{50} ditentukan dari persamaan regresi linier antara konsentrasi larutan bahan uji dengan persen penangkapan radikal bebas rata-rata dari masing-masing konsentrasi. Persamaan regresi linier, harga r tabel dengan taraf kepercayaan 95% serta harga ES_{50} untuk ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan isolat 1 dapat dilihat pada tabel III.

Harga ES_{50} berbanding terbalik dengan potensi penangkapan radikal bebas. Semakin besar harga ES_{50} maka potensi penangkapan radikal bebasnya semakin kecil, artinya konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan aktivitas penangkapan radikal bebas sebesar 50% semakin besar. Tabel II menunjukkan bahwa isolat 1 mempunyai harga ES_{50} paling kecil, artinya isolat 1 mempunyai potensi paling besar dibandingkan fraksi etil asetat dan ekstrak etanol. Sedangkan fraksi etil asetat mempunyai harga ES_{50} lebih kecil dibandingkan ekstrak etanol, artinya fraksi etil asetat mempunyai potensi lebih besar dibanding ekstrak etanol. Hal

tersebut dimungkinkan karena flavonoid yang tersari dalam fraksi etil asetat adalah dalam bentuk aglikon. Aglikon flavonoid lebih reaktif dibandingkan glikosidanya (Harborne, 1988), sehingga fraksi etil asetat memiliki potensi penangkapan radikal bebas yang lebih besar.

Data persen penangkapan radikal bebas oleh ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan isolat 1 pada berbagai konsentrasi dapat diuji dengan statistik. Metode statistik yang digunakan dapat diketahui dengan terlebih dahulu menguji distribusinya dengan uji Kolmogorov-Smirnov dan homogenitas variannya dengan uji Leven menggunakan taraf kepercayaan 95%.

Dari uji Kolmogorov-Smirnov diperoleh harga signifikansi untuk konsentrasi sebesar 0,625 dan untuk aktivitas sebesar 0,242. Harga signifikansi yang diperoleh lebih besar dari 0,05 yang artinya bahwa data tersebut terdistribusi normal. Pada uji Leven diperoleh harga signifikansi sebesar 0,005 lebih kecil dari 0,05, yang berarti variannya tidak homogen. Dari kedua hasil uji diperoleh data yang terdistribusi normal tapi variannya tidak homogen sehingga tidak dapat digunakan metode statistik parametrik karena tidak memenuhi persyaratan data

Tabel III. Persamaan regresi linier antara konsentrasi vs persen penangkapan radikal bebas ekstrak etanol, fraksi etil asetat, isolat 1 dan harga r tabel serta harga ES_{50} .

Perlakuan	Persamaan	r hitung	r tabel	ES_{50}
Ekstrak etanol	$y = 2,339x + 13,427$	0,9872		15,636 $\mu\text{g/ml}$
Fraksi etil asetat	$y = 3,075x + 7,110$	0,9976	0,95000	13,948 $\mu\text{g/ml}$
Isolat 1	$y = 9,816x + 11,116$	0,9889		3,961 $\mu\text{g/ml}$

parametrik. Pengujian selanjutnya dilakukan dengan metode nonparametrik menggunakan metode Kruskal Wallis pada taraf kepercayaan 95%. Pada uji tersebut diperoleh harga signifikansi 0,000 lebih kecil dari 0,05. Hal tersebut menunjukkan bawa antar berbagai kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang bermakna.

Selanjutnya dilakukan uji Mann-Whitney untuk mengetahui perbedaan antara masing-masing konsentrasi dari semua perlakuan. Diperoleh harga signifikansi lebih kecil dari 0,05 untuk semua perlakuan ini berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada semua perlakuan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak etanol, fraksi etil asetat ekstrak etanol, serta isolat 1 akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) mempunyai aktivitas anti-oksidan sebagai penangkap radikal bebas DPPH
2. Harga ES₅₀ ekstrak etanol ekstrak etanol akar pasak bumi adalah 15,636 µg/ml dan ES₅₀ fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi adalah 13,948 µg/ml serta isolat 1 sebesar 3,961 µg/ml .

Saran

Perlu dilakukan penelitian tentang aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH terhadap hasil isolat dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ang, Chan, Mak, 1995, Effect of 7-day daily replacement of culture medium containing *Eurycoma longifolia* Jack constituents on the Malaysian *Plasmodium falciparum* isolates, *Journal of Ethnopharmacology*, **49**: 171-175.
- Ang, Ngai, 2001, Aphrodisiac evaluation in non-copulator male rats after chronic administration of *Eurycoma longifolia* Jack, 2001, *Fundamental & Clinical Pharmacology*, **15**: 265-268.
- Ang, 2002, Cytotoxic and antimalarial constituents from the roots of *Eurycoma longifolia*, *Fundamental & Clinical Pharmacology*, **15**, 265-268.
- Beddir, Abou-Gazar, Ngwendson, Khan 2003, Eurycomanoside: A new quassinoid from the roots of *Eurycoma longifolia*. *Chem. Pharm. Bull.* **51**(11): 1301-1303
- Choo, and Chan, 2002, The toxicity of some quassinoids from *E. longifolia* Jack, *Planta Medica*, **68**(7): 662-4.
- Jiwajinda, Santisopasri, Murakami, Sugiyama, Gasquet, Riad, Balansard, Ohigashi, 2001, *In vitro* anti-tumor promoting and anti-parasitic activities of the quassinoids from *Eurycoma*

- longifolia*, A Medicinal Plant in Southeast Asia, *J. Ethnopharmacol*, **82** (10): 55.
- Kuo, Damu, Lee., Wu, 2004, Cytotoxic and antimalarial constituents from the roots of *Eurycoma longifolia*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **12**: 537-544.
- Nurani, Mubarika, Pramono, Mustofa, 2008, The Cytotoxicity of Extract of *Eurycoma longifolia* Jack Root on T47D Cell Line, *Proceeding, International Symposium, Cancer, Ahmad Dahlan University*
- Nurhanan, Azimathol, Mohd, Moch, 2005, Cytotoxic Effect of the Root Extracts of *Eurycoma longifolia* Jack, *Phytother.Res*, **19**, 994-996.
- Sangat, Zuhud, dan Damayanti, 2000. *Kamus Penyakit dan Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Tan, Yuen, Chan, 2002, HPLC analysis of plasma 9-metoxycanthin-6-one from *Eurycoma longifolia* and its application in a bioavailability/ pharmacokinetic study, *Planta Med*, 68(4): 355-8.
- Van Steenis, 1997, *Flora untuk Sekolah di Indonesia*, terjemahan Maeso Soerjowinoto, Paramita, Jakarta.