

POTENSI TERAPI TUNGGAL ANTIMALARIA EKSTRAK ETANOL AKAR WIDURI (*Calotropis gigantea*) SECARA IN VIVO

Fiisyatirodiyah¹, Abdul Hakim², Roihatul Muti'ah², Elok Kamilah Hayati¹

¹Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Malang Indonesia

²Jurusan Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Malang Indonesia

ABSTRAK

Tanaman Widuri mengandung beberapa golongan senyawa aktif, diantaranya flavonoid, alkaloid, terpenoid dan steroid. Senyawa-senyawa tersebut telah terbukti bermanfaat sebagai antimalaria. Selain itu, daun *Calotropis procera* berpotensi antimalaria, sehingga diduga akar *Calotropis gigantea* juga berpotensi sebagai antimalaria karena mempunyai kekerabatan dalam satu genus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antimalaria ekstrak etanol 80 % akar Widuri (*Calotropis gigantea*) pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dan identifikasi golongan senyawa aktifnya.

Tahapan penelitian ini meliputi analisis kadar air sampel basah, preparasi sampel, analisis kadar air sampel kering, kemudian ekstraksi senyawa aktif dengan maserasi. Setelah itu, dilakukan uji antimalaria dan dilanjutkan dengan uji fitokimia. Senyawa aktif yang positif terhadap uji fitokimia diidentifikasi dengan metode Kromatografi Lapis Tipis.

Hasil kadar air sampel basah sebesar 51,17 %, sedangkan kadar air sampel keringnya sebesar 4,96 %. Isolasi senyawa aktif dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80 %. Efektivitas antimalaria ekstrak etanol 80 % akar tanaman Widuri (*Calotropis gigantea*) dalam menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* pada mencit adalah sangat baik dengan nilai ED₅₀ sebesar 4,26 mg/Kg BB. Golongan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol 80 % akar Widuri (*Calotropis gigantea*) berdasarkan uji reagen adalah golongan senyawa terpenoid dan saponin. Hasil identifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis menunjukkan bahwa eluen terbaik untuk golongan senyawa terpenoid adalah n-heksana : etil asetat (2 : 8) yang menghasilkan penampakan warna ungu pada panjang gelombang 366 nm dengan pereaksi Lieberman-Burchard, sedangkan eluen terbaik untuk saponin adalah kloroform : aseton (4 : 1) dengan penampakan warna ungu pada panjang gelombang 366 nm dengan pereaksi H₂SO₄ 0,1 M.

Kata kunci : *Calotropis gigantea*, antimalarial, Fitokimia, Kromatografi Lapis Tipis

PENDAHULUAN

Malaria adalah penyakit infeksi yang paling luas penyebarannya di dunia dan diperkirakan 1/3 penduduk di dunia terkena penyakit infeksi. Malaria sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan dunia, khususnya di daerah tropis seperti di Indonesia.

Pada tahun 1997 sebanyak 93.7 juta penduduk Indonesia terancam terkena penyakit malaria (WHO, 2001). Penyebab penyakit ini adalah parasit *Plasmodium* yang termasuk protozoa (protista mirip hewan). *Plasmodium* merupakan golongan sporozoa yang membutuhkan vektor berupa nyamuk

Anopheles. Ada empat spesies *Plasmodium*, yaitu *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium malariae* (Widjajanti, 1988).

Salah satu faktor utama penyebab peningkatan infeksi tersebut adalah timbulnya strain resisten terhadap obat malaria yang tersedia. Permasalahan resistensi terhadap obat malaria semakin lama semakin bertambah. Di wilayah Amazon dan Asia Tenggara telah ditemukan bahwa *Plasmodium falciparum* telah resisten terhadap klorokuin. *Plasmodium vivax* juga ditemukan telah resisten klorokuin di wilayah Papua Nugini, Papua Barat dan Sumatera (Widoyono, 2010).

Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif dalam mengatasi penyakit malaria. Pada penelitian ini akan diuji efektivitas antimalaria dari akar tanaman Widuri (*Calotropis gigantea*).

Uji fitokimia pada akar Widuri (*Calotropis gigantea*) mengandung alkaloid, karbohidrat, glikosida, senyawa fenolik/tanin, flavonoid, saponin, sterol, protein dan asam amino dan senyawa-senyawa asam serta resin (Kumar *et al.*, 2013). Penelitian yang dilakukan Ravi *et al.* (2011), menunjukkan aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol akar *Calotropis gigantea* dengan konsentrasi yang berbeda menggunakan metode BSLT diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 62,12 µg/mL.

Terdapat aktivitas antimalaria secara *in vitro* pada ekstrak daun *Calotropis procera* menggunakan variasi pelarut etanol, n-heksana, kloroform, metanol, etil asetat dan air. Pada penelitian tersebut menunjukkan adanya penurunan aktivitas plasmodia seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak daun *Calotropis procera* (Mudi dan Bakar, 2011).

Calotropis gigantea dan *Calotropis procera* merupakan dua jenis tumbuhan yang berbeda spesies saja. Jika *Calotropis procera* berpotensi

sebagai antimalaria, maka dimungkinkan juga bahwa *Calotropis gigantea* memiliki aktivitas yang sama. Hal ini didasarkan kekerabatannya dalam satu genus, maka tumbuhan tersebut dimungkinkan memiliki kandungan kimia yang relatif sama serta memiliki aktifitas yang mirip. Oleh karena itu perlu dilakukan kajian lebih lanjut untuk membuktikan aktifitas farmakologinya (Marianne, dkk., 2011).

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi di bidang pengobatan herbal dan digunakan sebagai alternatif pengobatan malaria yang mudah, murah, aman dan efektif.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah akar tanaman widuri (*Calotropis gigantea*), etanol 80 %, reagen Dragendroff, Mayer, Lieberman-Burchard, metanol 50 %, logam Mg, HCl 2 %, HCl pekat, kloroform, asam asetat anhidrat, aquades, larutan FeCl₃ 1 %, H₂SO₄ . pekat, HCN 1 N, n-heksana, aseton, etil asetat, asam asetat, H₂SO₄ 0,1 M, mencit putih jantan galur Balb/C, pakan mencit (pellet), darah jantung dari mencit donor yang terinfeksi parasit, EDTA, larutan Alsever's, gliserol 10 %, larutan PBS, buffer Giemsa, Giemsa fluka, metanol, klorokuin, larutan CMC-Na 1 %.

PROSEDUR PENELITIAN

Preparasi Sampel

Akar tanaman Widuri diambil sebanyak 2 Kg. Kemudian dicuci dan dikeringkan di udara terbuka, dipotong kecil-kecil. Selanjutnya, dikeringkan dengan oven pada suhu 30 – 37 °C selama 5 – 6 jam. Setelah kering, akar tanaman Widuri diblender sampai terbentuk serbuk dan diayak dengan ukuran 60 mesh sehingga terbentuk serbuk yang homogen.

Ekstraksi Senyawa Aktif

Serbuk akar tanaman Widuri ditimbang sebanyak 100 g dan

direndam dengan dengan pelarut etanol 80 % selama 24 jam pada suhu kamar dengan pengocokan 120 rpm selama 3 jam menggunakan *shaker*. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat tersebut dioven pada suhu 37 °C untuk menghilangkan residu etanolnya. Kemudian ditimbang sampai diperoleh berat yang konstan.

Uji Antimalaria

Ekstrak akar Widuri diujikan secara *in vivo* pada hewan coba. Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan *Mus musculus* yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dan dikelompokkan menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok non infeksi; kontrol negatif; kontrol positif (klorokuin dosis 5,71 mg/KgBB); ekstrak akar widuri dengan dosis 0,1 mg/KgBB; 1 mg/KgBB dan 10 mg/KgBB. Terapi dilakukan ketika derajat parasitemia setelah infeksi mencapai 1 – 5 % yang dihitung sebagai hari ke-0. Terapi dilakukan setiap hari selama 4 hari. Pengamatan derajat parasitemia dilakukan setiap hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan analisis kualitatif yang digunakan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa aktif yang terdapat dalam suatu bahan. Uji fitokimia dalam penelitian ini meliputi uji flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin dan saponin. Hasil positif dari uji fitokimia, diidentifikasi lebih lanjut dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis

Proses identifikasi merujuk pada sumber literatur Harbone (1987) dan Sastroamidjojo (1985). Ekstrak pekat akar Widuri sebanyak 1000 mg dilarutkan dalam 1 mL etanol 80 %. Kemudian, dimasukkan campuran eluen ke dalam bejana pengembang dan ditutup bejana pengembang

selama 1 jam untuk menjenuhkan uap eluennya.

Pemisahan dengan KLT ini digunakan plat silika gel F₂₅₄. Plat silika diaktivasi terlebih dahulu dengan pemanasan dalam oven pada suhu 60 – 70 °C selama 10 menit. Masing-masing plat dipotong dengan ukuran 1x10² cm. Ekstrak etanol akar Widuri (*Calotropis gigantea*) ditotolkan pada plat KLT pada jarak ± 1 cm dari tepi bawah plat menggunakan pipa kapiler. Kemudian dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya. Noda disemprot dengan pereaksi dan diperiksa dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Kemudian diamati noda tersebut dan dihitung nilai R_f.

Analisis Data

Nilai efektivitas dosis 50 % (ED₅₀) dihitung berdasarkan analisa probit % penghambatan parasit selama 4 hari dan ditunjukkan dengan analisis regresi linear dengan program Microsoft Office Excel. Persen penghambatan juga dianalisis menggunakan MINITAB 16 dengan ANOVA *two way* dan dilanjutkan dengan uji tukey.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Pengeringan sampel dilakukan terlindung dari sinar matahari dengan harapan tidak merusak kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel (Goeswin, 2007). Kemudian, sampel diblender untuk memperkecil ukuran partikel sehingga diperoleh serbuk akar widuri. Sampel kering diayak dengan ukuran 60 mesh. Ukuran 60 mesh merupakan ukuran yang cukup efektif agar pelarut dapat mengabsorpsi seluruh bagian sel terutama dinding sel. Dinding sel tumbuhan terbuka pada ukuran serbuk 60 mesh, sehingga memudahkan meresapnya pelarut selama proses ekstraksi (Dewi, 2007).

Ekstraksi Senyawa Aktif

Ekstrak pekat yang diperoleh berwarna kuning kecoklatan sebesar 3,93 gr. Ekstrak ini digunakan untuk uji antimalaria secara *in vivo* pada mencit jantan, uji golongan senyawa aktif dengan reagen dan identifikasi golongan senyawa aktif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dengan variasi berbagai eluen.

Tabel 1. Rata-rata derajat parasitemia serta standar deviasi ekstrak etanol 80 % akar Widuri

Kelompok Perlakuan	Rerata derajat parasitemia (%) ± Standar Deviasi				
	Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4
Kontrol negatif	2,1 ± 0,43	2,7 ± 0,64	3,3 ± 0,30	3,7 ± 0,42	4,3 ± 0,73
Kontrol positif	2,4 ± 1,40	1,7 ± 0,60	1,3 ± 0,32	1,2 ± 0,31	1,0 ± 0,25
Dosis 1	1,8 ± 0,64	2,5 ± 0,57	1,8 ± 0,22	1,6 ± 0,27	2,0 ± 0,66
Dosis 2	2,1 ± 1,24	2,0 ± 0,43	1,9 ± 0,59	1,9 ± 0,59	1,6 ± 0,43
Dosis 3	1,9 ± 0,76	2,0 ± 0,59	1,7 ± 0,24	1,9 ± 0,29	1,5 ± 0,54

Keterangan:

Kontrol negatif : pemberian pelarut CMC-Na 1% yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

Kontrol positif : kelompok perlakuan klorokuin dosis 5,71 mg/Kg BB.

Dosis 1 : terapi ekstrak etanol 80 % akar widuri dosis 0,1 mg/Kg.

Dosis 2 : terapi ekstrak etanol 80 % akar widuri dosis 1 mg/Kg BB.

Dosis 3 : terapi ekstrak etanol 80 % akar widuri dosis 10 mg/Kg BB.

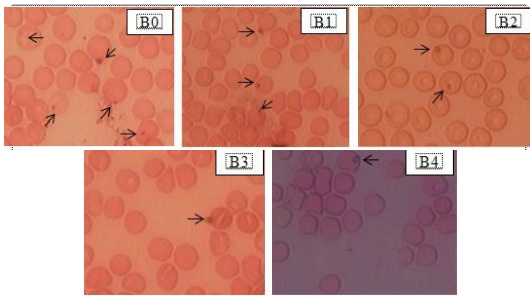
Uji Antimalaria

Terapi obat atau ekstrak dilakukan ketika derajat parasitemia telah mencapai 1 – 5 % yang dihitung sebagai hari ke-0. Pemberian bahan uji dilakukan sekali sehari selama 4 hari berturut-turut karena obat malaria pemberiannya cukup sehari sekali dan dalam waktu empat hari sudah dapat menghambat pertumbuhan parasit secara efektif (Kusumawardhani, dkk., 2005).

Aktivitas antimalaria ditetapkan melalui pengukuran derajat parasitemia pada hari ke-0 sampai 4. Penentuan derajat parasitemia pada hari ke-0 bertujuan untuk menentukan derajat parasitemia semua mencit telah berada pada *range* sekitar 1 – 5 % pada hari dilakukannya terapi. Pemeriksaan derajat parasitemia pada hari ke-1, sampai ke-4 bertujuan untuk mengetahui profil perkembangan parasit selama dilakukan terapi. Hasil pemeriksaan derajat parasitemia dari hari ke-0 hingga hari ke-4 dapat ditunjukkan pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1 rata-rata derajat parasitemia kelompok kontrol negatif semakin besar dengan bertambahnya hari terapi, sedangkan kelompok kontrol positif semakin kecil dengan bertambahnya hari terapi. Hal ini disebabkan oleh perbedaan perlakuan dari kedua kelompok tersebut. Kelompok kontrol positif diterapi menggunakan obat klorokuin, sedangkan kontrol negatif tidak. Kelompok dosis menunjukkan adanya perubahan fluktuatif. Hal ini disebabkan oleh perbedaan reaksi tubuh mencit terhadap infeksi yang berbeda-beda, seperti metabolisme dan sistem kekebalan tubuhnya.

Eritrosit yang terinfeksi parasit dimulai dengan merozoit yang masuk ke aliran darah dan menginfeksi eritrosit. Kemudian, merozoit akan mengalami perubahan morfologi menjadi tropozoit (Widoyono, 2010). Eritrosit yang terinfeksi parasit ditunjukkan oleh anak panah.



Gambar 1. Gambaran sel darah merah kontrol positif dengan pemberian klorokuin dosis 5,71 mg/Kg BB pada hari ke-0 sampai ke-4

Nilai derajat parasitemia yang digunakan adalah pada hari ke-4 atau hari terakhir pascaterapi. Setelah ditentukan derajat parasitemia masing-masing kelompok perlakuan, selanjutnya dihitung persen penghambatan parasit dengan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{penghambatan} = \frac{\text{parasitemia kontrol negatif} - \text{parasitemia obat/ekstrak}}{\text{parasitemia kontrol negatif}} \times 100 \%$$

Prosentase penghambatan pertumbuhan parasit dengan menggunakan rumus di atas pada hari ke-4 pascaterapi ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Persen penghambatan pertumbuhan parasit ekstrak etanol 80 % akar Widuri pada hari ke-4

Dosis (mg/Kg BB)	Persen penghambatan pertumbuhan parasit (%)
0,1	51,4
1	61,7
10	64,1

Penentuan dosis efektif dalam menghambat 50 % pertumbuhan parasit dengan menggunakan analisis probit % penghambatan. Selanjutnya, dilakukan analisis regresi linier dengan menggunakan Microsoft Excel. Kurva

yang diperoleh menghubungkan antara respon dengan dosis.

Pada kurva tersebut diperoleh persamaan garis liniernya, yaitu $y = 0.175x + 5,24$. Nilai ED_{50} ekstrak etanol 80 % akar Widuri kurang dari 10 mg/Kg BB. Artinya, ekstrak etanol 80 % akar Widuri dapat memiliki aktivitas antiplasmodial yang sangat bagus (Herintsoa, *et al.*, 2010).

Tabel 3. Hasil uji fitokimia golongan senyawa aktif ekstrak etanol 80 % akar Widuri

No.	Golongan senyawa aktif	Hasil kualitatif
1.	Alkaloid	-
2.	Flavonoid	-
3.	Terpenoid	++
4.	Saponin	++
5.	Tanin	-

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak etanol 80 % akar Widuri secara kualitatif. Hasil uji fitokimia golongan senyawa aktif ekstrak etanol 80 % akar Widuri ditunjukkan pada Tabel 3.

Komponen aktif yang terdapat pada akar widuri adalah terpenoid dan saponin. Kandungan terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecoklatan di antara dua pelarut yang tidak saling bercampur, sedangkan adanya senyawa saponin ditandai dengan adanya busa lagi yang tidak hilang selama 30 detik pada uji Forth.

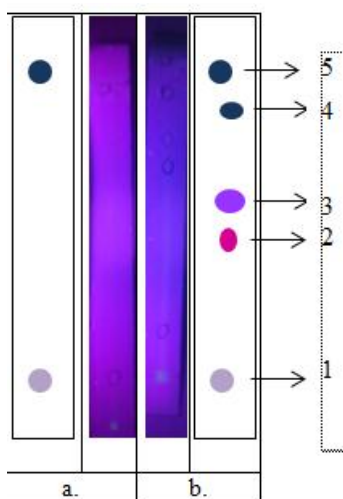
Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis

Sampel yang diidentifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis merupakan golongan senyawa aktif yang positif terhadap uji fitokimia.

Terpenoid

Eluen n-heksana : etil asetat (2 : 8) mampu memisahkan senyawa

terpenoid yang terkandung dalam akar Widuri dengan sangat baik. Hal ini ditunjukkan dengan munculnya 5 noda yang tidak berekor. Penampakan noda pada panjang gelombang 366 nm adalah warna ungu. Hasil pemisahan dengan eluen n-heksana : etil asetat (2 : 8) ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil KLT golongan senyawa terpenoid dengan eluen n-heksana : etil asetat (2 : 8) dengan pereaksi Liebermann-Burchard

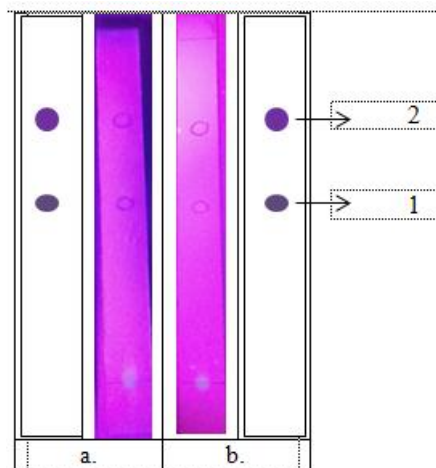
Tabel 4. Hasil KLT senyawa terpenoid dengan eluen n-heksana:etil asetat (2 : 8)

Noda ke-	Rf Tiap Noda	Warna noda dengan sinar UV 366 nm sebelum disemprot	Warna noda dengan sinar UV 366 nm setelah disemprot
1	0,19	Ungu muda	Ungu muda
2	0,68	-	Ungu
3	0,76	-	Ungu kebiruan
4	0,9	-	Biru
5	0,99	Biru	Biru

Identifikasi golongan terpenoid menggunakan KLT dengan eluen n-heksana : etil asetat (2 : 8) menghasilkan penampakan warna

ungu pada panjang gelombang 366 nm (Halimah, 2010).

Senyawa terpenoid diduga teridentifikasi pada Rf 0,19; 0,68; 0,76 karena memiliki penampakan warna ungu pada panjang gelombang 366 nm.



Gambar 3. Hasil KLT golongan senyawa saponin dengan eluen kloroform : aseton (4 : 1) dengan pereaksi H₂SO₄ 0,1 M

Saponin

Campuran eluen kloroform : aseton (4 : 1) menghasilkan 2 buah noda yang terpisah dengan sangat baik. Pola noda yang terbentuk berbentuk bundar dan tidak berekor. Penampakan noda pada panjang gelombang 366 nm adalah warna ungu. Hasil pemisahan dengan eluen kloroform : aseton (4:1) ditunjukkan pada Gambar 3.

Identifikasi saponin menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dengan campuran eluen kloroform : aseton (4 : 1) menghasilkan nilai Rf sebesar 0,77 (Suryanti, 2005). Senyawa saponin diduga teridentifikasi pada kedua noda tersebut karena menunjukkan penampakan warna ungu pada panjang gelombang 366 nm seperti pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil KLT senyawa saponin dengan eluen kloroform : aseton (4 : 1)

Noda ke-	Rf Tiap Noda	Warna noda dengan sinar UV 366 nm sebelum disemprot	Warna noda dengan sinar UV 366 nm setelah disemprot
1	0,5	Ungu muda	Ungu
2	0,75	Ungu muda	Ungu

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah efektivitas antimalaria ekstrak etanol 80 % akar tanaman Widuri (*Calotropis gigantea*) dalam menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* pada mencit secara *in vivo* adalah sangat baik dengan nilai ED₅₀ sebesar 4,26 mg/Kg BB. Sedangkan golongan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol 80 % akar Widuri (*Calotropis gigantea*) berdasarkan hasil identifikasi menggunakan uji reagen adalah golongan senyawa terpenoid dan saponin. Hasil identifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis menunjukkan bahwa eluen terbaik golongan senyawa terpenoid adalah n-heksana : etil asetat (2 : 8) yang menghasilkan penampakan warna ungu pada panjang gelombang 366 nm dengan pereaksi Lieberman-Burchard, sedangkan eluen terbaik senyawa saponin dengan eluen terbaik kloroform : aseton (4 : 1) dengan penampakan warna ungu pada panjang gelombang 366 nm dengan pereaksi H₂SO₄ 0,1 M.

DAFTAR PUSTAKA

Dewi, K.L. 2007. Kajian Ekstrak Umbi Gadung (*Dioscorea hispida*), Biji Rerak (*Sapindus rarak*) dan Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) Sebagai Bahan Pengawet Alami Kayu. *Skripsi* Diterbitkan. Bogor:

Fakultas Kehutana Institut Pertanian Bogor.

Goeswin, A. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung: ITB Press

Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB

Herintsoa, R., Robijaona RB, R.A.S., Rasoamahanina AM., R.E.K.F., Rakotoarimanana, H., Rakotondrabe. MH., Raminosoa, M., Rakotozafy, A., Ranaivoravo, J., Rajanoarison, JF., Ratsimamanga, S., Gatson, LT., Gauthier, KM., Solomon, D. dan Jacob, O.M. 2005. *Screening of Plant Extracts for Searching Antiplasmodial Activity*. 11th Madagascar: NAPRECA Symposium Book of Proceedings, Antananarivo

Kumar, S.P., Suresh dan Kalvathy, S. 2013. *Review on a Potential Herb Calotropis gigantea* Linn. Annamalai University

Kusumawardhani, D., Widyawaruyanti, A. dan Kusumawati, I. 2005. Efek Antimalaria Ekstrak Sambiloto Terstandar (Parameter Kadar Aandrografolida) Pada Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei*. *Majalah Farmasi Airlangga*. Vol.5. No.1. Surabaya: Ilmu Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Marianne, Y. dan Rosnani. 2011. Antidiabetic Activity From Ethanol Extract of Kluwih's Leaf (*Artocarpus camansi*). *Jurnal Natural*. Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh

Mudi, S.Y. dan Bukar, A. 2011. *Antiplasmodia Activity of Leaf Extracts of Calotropis procera*

- Linn. Nigeria: Biochemistry Vol. 23, No. 1
- Ravi, R.G., Harikesh D., Chandrasehar, T.R., Pramod, Y.G. dan Angad, P.M. 2011. Cytotoxic Activity of Ethanolic Root Extract of *Calotropis gigantean* Linn. *International Journal of Drug Development and Research*. Netherland
- Sastrohamidjojo, H. 1985. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press
- Suryanti, V., Martiana, S.M. dan Kristinawati, D. 2005. Komponen Kimia Buah Pare Belut (*Trichosanthes anguina* L.). *Jurnal Alchemy*. Volume 4, Nomor 2: 28–34
- Widjajanti, N. 1998. *Obat-obatan*. Yogyakarta: Kanisius
- Widoyono. 2010. *Penyakit Tropis: Epidemiologi, Penularan, Pencegahan dan Pemberantasannya Edisi Kedua*. Jakarta: Erlangga