

Efek Pemberian Dosis Berulang dan Dosis Tunggal Ekstrak Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus Champeden Spreng.*) Pada Mencit Terinfeksi *Plasmodium Berghei*

(Antimalarial Activity of Multiple Dose and Single Dose Administration of *Artocarpus Champeden Spreng.* Stembark Extract on *Plasmodium Berghei* Infected Mice)

SOFIANA SARI¹, ACHMAD FUAD HAFID^{1,2}, ATY WIDYAWARUYANTI^{1*}

¹Departemen Farmakognosi dan Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya.

²Lembaga Penyakit Tropis, Universitas Airlangga, Surabaya.

Diterima 1 April 2014, Disetujui 19 Februari 2015

Abstrak: *Artocarpus champeden* Spreng. (Moraceae) dikenal dengan nama daerah cempedak, merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai bahan ramuan obat tradisional untuk mengobati malaria. Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antimalaria dari ekstrak etanol 80% kulit batang cempedak pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei*. Ekstrak etanol *A. champeden* (ACEE) diberikan dalam dosis berulang (dua kali sehari) dan dosis tunggal (sekali sehari) secara per oral. Penelitian ini dilakukan menggunakan metode “4 days suppressive test” dari Peter yang telah dimodifikasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ACEE yang diberikan dalam dosis berulang (ED₅₀ 0,19 mg/kg BB) menghambat pertumbuhan parasit lebih tinggi daripada dosis tunggal (ED₅₀ 6,0 mg/kg BB) dan dosis 10 mg/kg BB dengan pemberian berulang lebih efektif daripada dosis 100 mg/kg BB yang diberikan dalam dosis tunggal.

Kata kunci: *Artocarpus champeden*, dosis berulang, dosis tunggal, malaria, *Plasmodium berghei*.

Abstract: *Artocarpus champeden* Spreng. (Moraceae) known as “cempedak”, was traditionally used for antimalarial remedies in Indonesia. Study to determine antimalarial activity of ethanol extract of cempedak stembark was carried out. *Artocarpus champeden* Ethanol Extract (ACEE) was administered twice per day (multiple dose) and once per day (single dose) orally. The study was carried out by modification method of the “4 Days Suppressive Test” originally described by Peter. The result showed that ACEE administered twice per day inhibited parasites growth (ED₅₀ 0.19 mg/kg BW) higher than once per day (ED₅₀ 6.0 mg/kg BW) and 10 mg/kg body weight of dose administrated twice per day was more effective than 100 mg/kg body weight once per day.

Keywords: *Artocarpus champeden*, multiple dose, single dose, antimalarial, *Plasmodium berghei*.

PENDAHULUAN

MALARIA merupakan salah satu penyakit infeksi yang menjadi permasalahan kesehatan masyarakat. Penyakit sangat mempengaruhi angka kematian dan kesakitan bayi, anak, dan ibu melahirkan serta dapat menurunkan produktifitas tenaga kerja. Malaria tersebar di seluruh dunia, mulai dari daerah tropik,

subtropik, dan daerah dengan iklim dingin. Dari hasil estimasi WHO pada tahun 2011, terdapat 3,3 milyar orang yang beresiko terkena penyakit malaria dengan populasi tertinggi terdapat di negara Afrika⁽¹⁾. Sejauh ini, usaha unttabuk melawan kematian akibat penyakit malaria kurang berhasil, karena tampaknya terdapat resistensi parasit malaria (*Plasmodium*) terhadap beberapa jenis obat antimalaria yang ada seperti klorokuin dan kombinasi sulfadoksin-pirimetamin^(2,3,4). Penelitian untuk mendapatkan obat

* Penulis korespondensi, Hp. 08113404171
e-mail: aty-w@ff.unair.ac.id

antimalaria baru baik secara sintesis maupun dari bahan alam khususnya dari tumbuhan masih terus berlanjut. WHO menyatakan bahwa obat herbal atau pengobatan tradisional banyak digunakan secara luas di dunia. Bagi jutaan orang, obat herbal dan pengobatan tradisional menjadi sumber pengobatan yang utama. Sejak tahun 2002, terjadi peningkatan yang signifikan terhadap implementasi, regulasi dan peraturan mengenai obat herbal atau juga yang disebut sebagai obat komplementer⁽⁵⁾.

Artocarpus champeden (suku Moraceae) atau dikenal dengan nama daerah cempedak, merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai bahan ramuan obat tradisional untuk mengobati malaria dan penyakit lain seperti panas/demam, disentri dan penyakit kulit. *A. champeden* mengandung campuran yang kompleks dari berbagai jenis flavonoid yaitu flavanon, flavon, 3-prenilflavon, piranoflavon, oksepinoflavon, dihidrobenzosanton dan furanodihidrobenzosanton⁽⁶⁾. Selain itu, pada tanaman ini juga telah ditemukan adanya senyawa triterpenoid jenis triterpen, yaitu sikloartenon, 24-metilensikloartenon, sikloekalenol, glutinol dan senyawa steroid β -sitosterol⁽⁷⁾. *A. champeden* juga mengandung senyawa heteroflavanon C yang mempunyai aktivitas antimalaria lebih kuat dibandingkan klorokuin⁽⁸⁾.

Penelitian awal telah dilakukan untuk mengetahui aktivitas antimalaria *A. champeden*, yaitu ekstrak metanol kulit batang *A. champeden* dan fraksi kloroform dari ekstrak metanol menunjukkan adanya aktivitas antimalaria pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei*^(9,10). Telah juga dilakukan penelitian oleh Widyawaruyanti *et al.*, untuk mengetahui aktivitas antimalaria *in vivo* dari ekstrak etanol 80% kulit batang *A. champeden* pada mencit terinfeksi *P. berghei* secara dosis tunggal. Dosis yang digunakan adalah 100 mg/kg BB, 10 mg/kg BB, 1 mg/kg BB. Dari penelitian ini diketahui bahwa ekstrak etanol 80% mempunyai hambatan parasit 76,70% pada dosis 100 mg/kg BB, 73,48% pada dosis 10 mg/kg BB, 55,11% pada dosis 1 mg/kg BB dan dosis efektif yang mampu menghambat 50% pertumbuhan *P. berghei* secara *in vivo* (*effective dose*; ED₅₀) sebesar 0,24 mg/kg⁽¹¹⁾. Selanjutnya, ekstrak etanol 80% yang dikombinasikan dengan artesunat dan diberikan pada mencit yang terinfeksi *P. berghei* selama 3 hari dapat menghambat pertumbuhan parasit 100% pada pengamatan hari ke-4 dan 82,32% pada pengamatan hari ke-7⁽¹²⁾. Penelitian lebih lanjut dilakukan oleh Hafid *et al.* dengan mengisolasi senyawa *marker* dari ekstrak kulit batang *A. champeden* dan telah diidentifikasi sebagai Morakhalon A. Senyawa ini

dapat menghambat pertumbuhan *P. falciparum* dengan nilai IC₅₀ (*inhibitory concentration*) sebesar 0,18 μ g/mL⁽¹³⁾.

Pemberian obat dengan aturan pemakaian dosis berulang (*multiple dose*) bertujuan untuk memperpanjang aktivitas terapeutik. Kadar plasma obat harus dipertahankan dalam batas rentang terapi untuk mencapai efektivitas yang maksimal. Untuk menjaga agar obat relatif konstan dalam plasma pada rentang terapi, maka obat per oral diberikan dalam dosis berulang. Secara ideal, suatu aturan dosis untuk tiap obat ditetapkan untuk memberikan kadar plasma yang benar tanpa terjadi fluktuasi ataupun akumulasi obat yang berlebihan⁽¹⁴⁾.

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa pada pemberian dosis tunggal ekstrak etanol 80% kulit batang cempedak, dengan 100 mg/kg BB, 10 mg/kg BB, 1 mg/kg BB, pertumbuhan parasit kembali meningkat setelah pemberian ekstrak dihentikan^(9,10,11). Untuk menjamin kadar obat dalam darah relatif konstan sehingga mampu menghambat parasit lebih kuat walaupun pemberian ekstrak dihentikan, maka telah dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antimalaria dari ekstrak etanol 80% kulit batang *A. champeden* pada pemberian dosis berulang (*multiple dose*) dan dosis tunggal.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan Tanaman. Kulit batang *A. champeden* Spreng. yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Bogor dan telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bogor, Jawa Barat. Kulit batang *A. champeden* dikeringkan di udara terbuka, setelah kering kemudian diserbuk untuk selanjutnya dilakukan ekstraksi.

Parasit. Parasit yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Plasmodium berghei* strain ANKA yang didapatkan dari Laboratorium Parasitologi, Universitas Brawijaya, Malang yang kemudian dikembangkan di Laboratorium Hewan Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga melalui kultivasi pada mencit.

Mencit Uji. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus*) galur BALB-C yang didapat dari Pusat Veterinaria Farma (Pusvetma) Surabaya. Mencit yang digunakan adalah mencit jantan dewasa dengan umur 2-3 bulan dan berat badan 20-25 g. Sebelum digunakan untuk percobaan, mencit uji diadaptasi selama 2 minggu, diberi makanan pelet dan air ad libitum. Mencit uji yang digunakan berjumlah 24 ekor, dibagi menjadi 8 kelompok dengan masing-masing kelompok 3 ekor mencit sebagai berikut: (1) satu kelompok kontrol

negatif yaitu DMSO 2% dalam suspensi CMC Na 0,5 %; (2) empat kelompok ekstrak uji dengan masing-masing dosis 100 mg/kg BB; 10 mg/kg BB; 1 mg/kg BB dan 0,25 mg/kg BB dengan pemberian 2 kali sehari^(15,16); (3) tiga kelompok ekstrak uji dengan masing-masing dosis 100 mg/kg BB; 10 mg/kg BB; dan 1 mg/kg BB dengan pemberian 1 kali sehari.

Ekstraksi. Proses pembuatan ekstrak adalah sebagai berikut sebanyak 0,9 kg serbuk kulit batang *A. champeden* dimaserasi dengan pelarut etanol 80% sebanyak 5 liter di dalam labu rotavapor, kemudian diekstraksi selama 2 jam pada suhu 60°C. Kemudian filtrat disaring dan residu dipisahkan. Residu dimaserasi kembali dengan 5 L etanol 80% selama 2 jam. Proses ini dilakukan sebanyak 3 kali. Kemudian filtrat yang didapat dikumpulkan, diendapkan 1 malam, disaring dan diuapkan dengan rotavapor pada suhu 40°C sehingga didapatkan ekstrak kering.

Penyiapan Larutan Uji dan Kontrol Negatif. Larutan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol *A. champeden* dengan dosis 100 mg/kg BB; 10 mg/kg BB; dan 1 mg/kg BB dan 0,25 mg/kg BB. Larutan kontrol negatif yang digunakan adalah larutan CMC Na 0,5%. Dengan asumsi bahwa berat badan standar mencit adalah 25 gram dan volume tiap pemberian adalah 250 µL, maka cara pembuatan larutan uji adalah sebagai berikut :

1. Larutan uji dosis 100 mg/kg BB dibuat dengan cara menimbang ekstrak sejumlah 250 mg lalu di tambahkan DMSO dengan kadar maksimal 2% dari volume akhir sampai larut dan disuspensikan dengan suspensi CMC Na 0,5% sampai volume 25,0 mL. Selanjutnya disebut sebagai larutan 1.
2. Larutan uji dosis 10 mg/kg BB dibuat dengan cara mengambil 1 mL dari larutan 1 dengan mikropipet dan disuspensikan dengan suspensi CMC Na 0,5% sampai volume 25,0 mL. Selanjutnya disebut sebagai larutan 2.
3. Larutan uji dosis 1 mg/kg BB dibuat dengan cara mengambil 1 mL dari larutan 2 dengan mikropipet dan disuspensikan dengan suspensi CMC Na 0,5% sampai volume 25,0 mL.
4. Larutan uji dosis 0,25 mg/kg BB dibuat dengan cara mengambil 625 µL dari larutan 2 dengan mikropipet dan disuspensikan dengan suspensi CMC Na 0,5% sampai volume 25,0 mL.

Pengujian Aktivitas Antimalaria Secara In Vivo. Pengujian ini dilakukan berdasarkan pada uji *in vivo Peter's test (the 4-days suppressive test)* yang telah dimodifikasi⁽¹⁵⁾. Tahap awal dari proses pengujian adalah dengan penginfeksi mencit uji. Terlebih dahulu dibuat mencit donor yaitu simpanan beku eritrosit yang terinfeksi *P. berghei*, dinaikkan suhunya dengan cara dihangatkan dengan telapak

tangan sambil diputar-putar agar sesuai dengan suhu tubuh mencit. Setelah itu, simpanan tersebut diinjeksikan ke dalam tubuh mencit donor secara intraperitoneal sebanyak 200 µL. Apabila parasitemia telah mencapai ±20%, dilakukan pembedahan mencit donor untuk mengambil darah yang mengandung *P. berghei* secara intrakardial (dari jantung). Lalu darah dengan parasitemia 5% diinfeksi ke mencit uji secara intraperitoneal.

Pemberian larutan uji dilakukan apabila sudah ada pertumbuhan parasit ±1%. Pemberian larutan uji dilakukan pada hari ke-0 sampai hari ke-4 secara per oral. Pada dosis berulang, pemberian larutan uji diberikan 2 kali sehari yaitu tiap 12 jam. Sedangkan pada dosis tunggal, 1 kali sehari. Tiap hari pertumbuhan parasit diamati sampai hari ke 7 (D0-D6) dengan cara mengambil sampel darah mencit dari ekor dan dibuat hapusan darah tipis.

Evaluasi. Pengamatan pertumbuhan parasit dilakukan dengan membuat hapusan darah tipis, yaitu dibuat dengan cara meneteskan 1 tetes darah dari ekor mencit terinfeksi *P. berghei* pada gelas objek, lalu difiksasi dengan metanol selama ± 5 detik, kemudian diwarnai dengan giemsa 10% selama 30 menit dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. Pembuatan hapusan darah dilakukan setiap hari sebelum mencit diberi perlakuan. Perhitungan parasitemia dilakukan dengan cara membandingkan jumlah eritrosit yang terinfeksi *P. berghei* dengan eritrosit yang tidak terinfeksi. Perhitungan ini dilakukan pada tiap 1000 eritrosit. Kemudian dihitung persen pertumbuhan dan persen penghambatan parasit dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ pertumbuhan} = \frac{P(d_1 - d_0) + P(d_2 - d_1) + P(d_3 - d_2) + P(d_4 - d_3)}{\text{Jumlah hari} - 1}$$

Keterangan: $P(d_x - d_{x-1})$ = % parasitemia hari ke-(x) dikurangi % arasitemia hari ke-(x-1),

$$\% \text{ penghambatan} = 100\% - (X_e/X_k) \times 100\%$$

Keterangan: X_e = % pertumbuhan parasit kelompok uji, X_k = % pertumbuhan parasit pada kontrol negatif.

Data % penghambatan pada $D_0 - D_4$ selanjutnya dianalisis dengan menggunakan analisis probit untuk memperoleh ED_{50} (*Effective Dose 50* adalah dosis efektif yang mampu menghambat 50% pertumbuhan *P. berghei* secara *in vivo*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian tercantum pada Tabel 1. Hasil uji menunjukkan bahwa persentase penghambatan pertumbuhan parasitemia pada dosis 100 mg/kg BB, dosis 10 mg/kg BB, dosis 1 mg/kg BB dan dosis

Tabel 1. Persen pertumbuhan parasitemia dan persen penghambatan rata-rata ekstrak etanol 80% kulit batang *A. Champeden. Spreng. dari D₀-D₄*.

Kelompok (mg/kg BB)	Replikasi	%Pertumbuhan	%Penghambatan	Rata – rata% penghambatan
Kontrol negatif	1	4,09	-	-
	2	5,97	-	-
	3	4,68	-	-
Dosis berulang 100	1	1,48	69,86	73,59
	2	1,16	76,37	
	3	1,25	74,54	
Dosis berulang 10	1	1,22	75,15	72,30
	2	1,28	73,93	
	3	1,58	67,82	
Dosis berulang 1	1	1,30	73,52	67,00
	2	1,88	61,71	
	3	1,86	65,78	
Dosis berulang 0,25	1	3,24	34,01	42,74
	2	3,14	36,05	
	3	2,05	58,16	
Dosis tunggal 100	1	1,92	60,90	60,22
	2	1,56	68,23	
	3	2,38	51,53	
Dosis tunggal 10	1	2,67	45,62	53,02
	2	2,47	49,69	
	3	1,78	63,75	
Dosis tunggal 1	1	3,38	31,16	42,57
	2	2,73	44,40	
	3	2,60	47,05	

0,25 mg/kg BB pada pemberian dosis berulang berturut-turut adalah 73,59 %, 72,30 %, 67,00 % dan 42,74 %. Terlihat bahwa penghambatan meningkat seiring dengan kenaikan dosis. Kemudian persentase penghambatan (D_0 - D_4) tersebut dianalisis dengan analisa probit untuk mengetahui besarnya ED_{50} . Pada pemberian dosis berulang, didapatkan nilai ED_{50} sebesar 0,19 mg/kg BB. Sedangkan pada pemberian dosis tunggal, persentase penghambatan pertumbuhan parasitemia pada dosis 100 mg/kg BB, dosis 10 mg/kg BB, dan dosis 1 mg/kg BB berturut-turut adalah 60,22%, 53,02%, dan 42,57%. Hasil analisis nilai ED_{50} yang diperoleh adalah sebesar 6,01 mg/kg BB.

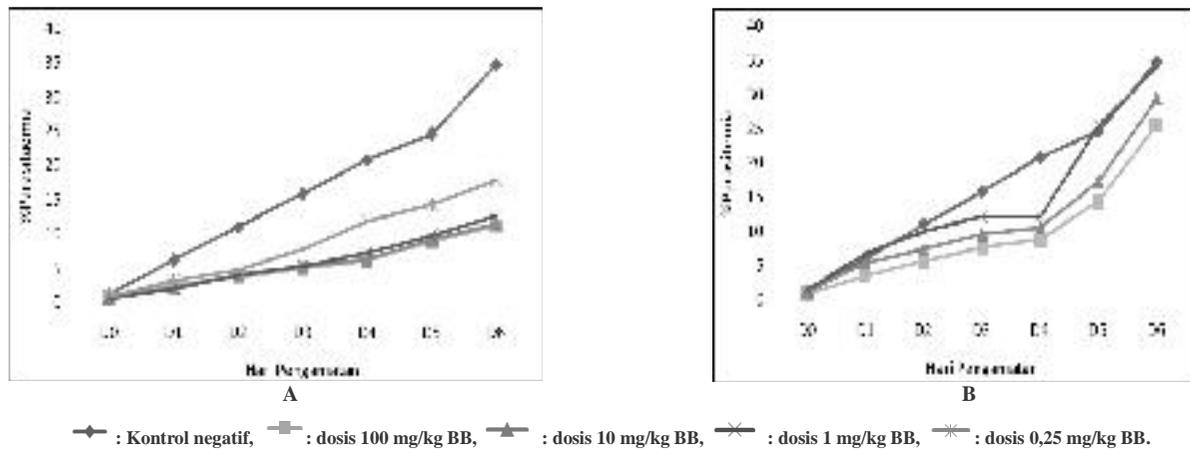
Menurut Fidock *et al*, suatu obat/bahan obat dikatakan prospektif untuk dikembangkan sebagai obat malaria bila bahan tersebut mempunyai nilai $ED_{50} < 5-25$ mg/kg BB mencit pada uji *in vivo*⁽¹⁶⁾. Semakin kecil ED_{50} maka semakin besar efektivitas ekstrak uji terhadap *P.berghei in vivo*. ED_{50} pada pemberian dosis berulang lebih kecil dibandingkan dosis tunggal, hal ini berarti pemberian ekstrak dengan dosis berulang lebih efektif menghambat pertumbuhan parasit dibanding dosis tunggal. Hal ini kemungkinan karena pada dosis berulang, ekstrak bekerja di berbagai bentuk/tahapan parasit, siklus hidup parasit adalah 24 jam sehingga pemberian ekstrak 2 kali sehari dapat memberikan ketersediaan obat di dalam darah lebih lama.

Pada Tabel 1, persentase penghambatan rata-rata pada dosis berulang 2 kali sehari 100 mg/kg BB

adalah 73,59% dan pada dosis berulang 2 kali sehari 10 mg/kg BB adalah 72,30%. Berdasarkan analisis anava, persentase penghambatan pada dosis berulang 100 mg/kg BB dan 10 mg/kg BB tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,68$, $p>0,05$), sehingga untuk selanjutnya dipilih dosis berulang 2 kali sehari 10 mg/kg BB. Sedangkan persentase penghambatan rata-rata pada dosis tunggal 1 kali sehari 100 mg/kg BB adalah 60,22%. Hal ini menunjukkan bahwa dosis berulang 2 kali sehari 10 mg/kg BB lebih efektif dibandingkan dosis tunggal 1 kali sehari 100 mg/kg BB.

Pada pemberian ekstrak dengan dosis berulang, kadar obat dalam darah relatif terjaga dalam rentang dosis terapinya sehingga aktivitas obat dapat terus berjalan dan efek terapi dapat dipertahankan⁽¹³⁾. Pada dosis berulang 2 kali sehari setelah pemberian ekstrak *A.champeden* dihentikan (D_5 dan D_6), kenaikan pertumbuhan parasit rata-rata pada tiap dosis lebih kecil dibanding dosis tunggal yang bermultiplikasi lebih besar (Tabel 1 dan Gambar 1). Hal ini kemungkinan dikarenakan pada pemberian 2 kali sehari, ekstrak sudah mencapai dosis efektif dalam menghambat pertumbuhan parasit sehingga setelah ekstrak dihentikan, pertumbuhan parasit juga relatif lebih rendah dibanding dengan pemberian 1 kali sehari.

Berdasarkan pembahasan diatas dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 80% kulit batang *A. champeden* Spreng. dengan pemberian 2 kali sehari (dosis



Gambar 1. Grafik hubungan % parasitemia dengan dosis dari ekstrak etanol 80 % kulit batang *A.champeden* Spreng. pada dosis berulang (A) dan tunggal (B).

Tabel 2. Persen parasitemia rata-rata dari ekstrak etanol 80% kulit batang *A.champeden* Spreng. pada pemberian dosis berulang dan dosis tunggal.

Kelompok (mg/kg BB)	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅	D ₆
Kontrol negatif	1,13	6,17	11,03	15,84	20,79	24,62	34,77
Dosis berulang 100	0,91	2,57	3,65	4,99	6,14	8,93	11,17
Dosis berulang 10	0,77	2,11	4,06	5,34	6,22	9,22	11,46
Dosis berulang 1	0,55	2,08	4,06	5,35	7,27	9,72	12,67
Dosis berulang 0,25	0,72	3,17	4,77	7,72	11,91	14,34	17,92
Dosis tunggal 100	0,97	3,49	5,75	7,67	8,78	14,41	25,55
Dosis tunggal 10	1,38	5,42	7,55	9,64	10,61	17,41	29,46
Dosis tunggal 1	1,55	6,82	10,08	12,18	12,18	25,56	34,04

berulang) selama 4 hari perlakuan maupun setelah pemberian ekstrak dihentikan, dapat menghambat pertumbuhan *P. berghei* lebih tinggi dibanding pada pemberian dosis tunggal 1 kali sehari.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 80% *A. champeden* memiliki aktivitas antimalaria dengan nilai ED₅₀ pada dosis berulang sebesar 0,19 mg/kg BB dan dosis tunggal sebesar 6,01 mg/kg BB. Dosis 10 mg/kg BB pada pemberian 2 kali sehari (dosis berulang) lebih efektif menghambat pertumbuhan parasit dibanding dosis 100 mg/kg BB pemberian 1 kali sehari (dosis tunggal).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini menerima bantuan dana dari *Project Grant*, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga.

DAFTAR PUSTAKA

- WHO. World Malaria Report: 2012. WHO Press. Geneva. 2012. [1 tayangan], diambil dari http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2012/wmr2012_full_report.pdf. diakses Juni 2014.
- Bloland PB. Drug resistance in malaria. Malaria Epidemiology Branch Centers for Disease Control and Prevention (WHO/CDS/CSR/DRS/2001.4). Chamblee GA. United States of America. 2001. [1 tayangan]. diambil dari: <http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/malaria.pdf>. diakses Juni 2014.
- Hastings IM. The origins of antimalarial drug resistance. Trends Parasitol. 2004. Nov 20(11):512-8.
- Kim Y, Schneider KA. Evolution of drug resistance in malaria parasite population. Nature Education Knowledge. 2013. 4(8):6.
- World Health Organization. WHO traditional medicine strategy:2014-2023. WHO Press. Geneva. 2014. [1 tayangan], diambil dari http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/92455/1/9789241506090_eng.pdf. diakses Juni 2014.
- Hakim EH, Achmad SA, Juliawaty LD, Makmur L, Syah YM, Aimi N, *et al.* Prenylated flavonoids and related compounds of the Indonesian *Artocarpus* (Moraceae). J Nat Med. 2006. 60:161-84.
- Achmad SA, Hakim EH, Juliawaty LD, Makmur L, Suyatno. A new prenylated flavone from *Artocarpus champeden*. J Nat Prod. 1996. 9:878-9.
- Widyawaruyanti A, Subehan, Kalauni SK, Awale S, Nindatu M, Zaini NC, *et al.* New prenylated flavones from *Artocarpus champeden* and their antimalarial activity *in vitro*. J Nat Med. 2007.61:410-3.
- Utomo DNW. Aktivitas antimalaria ekstrak methanol kulit batang cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng.) terhadap *Plasmodium berghei in-vivo*

- [skripsi]. Surabaya: Fakultas Farmasi Unair; 2003.
10. Hidayati AR. Uji aktivitas antimalaria fraksi kloroform kulit batang cempedak (*Artocarpus chamedon* Spreng.) terhadap *Plasmodium berghei in-vivo*. [skripsi]. Surabaya: Fakultas Farmasi Unair; 2004.
 11. Widyawaruyanti A, Hafid AF, Ekasari W, Sjafruddin, Zaini NC. Ekstrak terstandar kulit batang cempedak (*Artocarpus chamedon* Spreng.) sebagai bahan baku obat fitofarmaka antimalaria potensial, Laporan Penelitian. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga; 2007.
 12. Hafid AF, Tyas MW, Widyawaruyanti A. Model terapi kombinasi ekstrak etanol 80% kulit batang cempedak (*Artocarpus chamedon* Spreng.) dan artesunat pada mencit terinfeksi malaria. J Indon Med Assoc. 4 April 2011. 61(4).
 13. Hafid AF, Ariantari NP, Tumewu L, Hidayati AR, Widyawaruyanti A. The active marker compound identification of *Artocarpus chamedon* Spreng. stem bark extract, morachacone A as antimalarial. Int J Pharm Pharm Sci. 2012. 4(S5).246-9.
 14. Shargel L, Wu-Pong S, Yu AB. Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics. 5th Ed. Boston: Mc Graw Hill; 2005.
 15. Philipson JD. Assays for antimalarial and amoebicidal activities. In: Day PM, Harborne JB, editors. Methods in plant biochemistry. Vol 6. London: Academic Press; 1991. 135-52.
 16. Fidock DA, Rosenthal PJ, Croft SL, Brun R, Nwaka S. Antimalarial drug discovery: Efficacy models for compound screening review. Nature. 2004. 509-20.

