

Aktivitas Antimalaria dan Skrining Fitokimia Metabolit Sekunder Kayu Batang dan Kulit Akar *Artocarpus Camansi Blanco* (*Moraceae*)

(Antimalarial Activity and Phytochemical Screening of Secondary Metabolites from Heartwood and Root Bark of *Artocarpus Camansi Blanco* (*Moraceae*))

ALIEFMAN HAKIM*, EKA JUNAIDI, BAIQ FARA DWI RANI SOFIA, YUNITA ARIAN SANI ANWAR

¹Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mataram
Jl. Majapahit 62 Mataram, Indonesia

Diterima 26 Mei 2010, Disetujui 7 September 2010

Abstrak: Parasit malaria, *Plasmodium*, dilaporkan telah resisten terhadap obat malaria yang umum digunakan, seperti klorokuin. Tanaman dari genus *Artocarpus* diketahui memiliki kandungan flavonoid yang tinggi. Salah satu bioaktivitas menarik dari flavonoid genus *Artocarpus* adalah antimalaria. Penelitian ini dilakukan untuk menguji potensi metabolit sekunder yang terkandung dalam kayu batang dan kulit akar *Artocarpus camansi Blanco* sebagai antimalaria. Aktivitas antimalaria ekstrak metanol kayu batang dan kulit akar *A. camansi Blanco* diuji secara *in vitro* terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7 (strain yang sensitif klorokuin) dan strain W2 (strain yang resisten klorokuin) serta dilakukan skrining fitokimia ekstrak aktif. Hasil uji aktivitas antimalaria ekstrak metanol kayu batang dan kulit akar *A. camansi Blanco* terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7 menunjukkan, kedua ekstrak aktif antimalaria memiliki nilai IC_{50} berturut-turut 1,84 $\mu\text{g/mL}$ dan 32,13 $\mu\text{g/mL}$. Uji aktivitas antimalaria ekstrak metanol kayu batang dan kulit akar *A. camansi Blanco* terhadap, strain W2 juga menunjukkan aktivitas antimalaria dengan nilai IC_{50} berturut-turut 8,11 $\mu\text{g/mL}$ and 17,10 $\mu\text{g/mL}$. Skrining fitokimia berhasil mengidentifikasi golongan senyawa flavonoid, terpenoid, dan tannin terdapat pada kedua bagian tumbuhan, sementara golongan senyawa kumarin dan saponin hanya terdapat pada bagian kulit akar *A. camansi Blanco*.

Kata kunci: *Artocarpus camansi Blanco*., *Plasmodium falciparum*, antimalaria.

Abstract: Malarial parasite, *Plasmodium*, has been reported resistant to commonly used antimalarial drugs, such as chloroquin. Plants of *Artocarpus* genus are known to have high content of flavonoids. One of interesting bioactivities of *Artocarpus* flavonoids is their antimalarial activity. This research is to investigate the potency of secondary metabolites in the heartwood and root bark of *Artocarpus camansi Blanco* as an antimalarial agent. Antimalarial activity from methanol extract of heartwood and roots bark of *A. camansi* were tested *in vitro* to *Plasmodium falciparum* 3D7 (strain sensitive to chloroquin) and W2 (strain resistant to chloroquin). The extracts were also phytochemically screened for compounds. The result showed that the methanol extract of heartwood and root bark of *A. camansi Blanco* inhibited the growth of *Plasmodium falciparum* 3D7 strain with IC_{50} values of 1.84 $\mu\text{g/mL}$ and 32.13 $\mu\text{g/mL}$, respectively; while similar antimalarial activity test to *Plasmodium falciparum* W2 strain showed IC_{50} values of 8.11 $\mu\text{g/mL}$ and 17.10 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Phytochemical screening indicated that the heartwood and root bark of *A. camansi Blanco* contain flavonoids, terpenoids, and tannin; while coumarin and saponins are present only in the root bark of *A. camansi Blanco*.

Keyword : *Artocarpus camansi Blanco*, *Plasmodium falciparum*, antimalarial agent

* Penulis korespondensi, Hp. 085937010657
e-mail: aliefmanhakim27@gmail.com

PENDAHULUAN

MALARIA adalah penyakit kronis dan akut yang disebabkan oleh protozoa dari jenis *Plasmodium*. Ada 4 spesies utama dari jenis *Plasmodium* yang menyebabkan penyakit malaria pada manusia, yaitu: *P.falciparum*, *P.vivax*, *P.malariae* dan *P.ovale*. Dari keempat spesies tersebut yang harus mendapat perhatian lebih adalah *P.falciparum*, karena spesies ini menyebabkan kematian paling banyak. Saat ini, hampir 40% populasi dunia yang berasal dari negara-negara paling miskin berisiko terkena malaria. Penyakit malaria tersebar di daerah tropis dan subtropis serta menyebabkan lebih dari 300 juta penyakit akut dan lebih dari 1 juta kematian setiap tahunnya. Total jumlah kasus di Indonesia sekitar 15 juta penderita malaria setiap tahun dengan angka kematian 30.000 orang. Adanya resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap obat antimalaria yang umum digunakan, seperti klorokuin, dan juga resistensi vektor nyamuk *Anopheles* terhadap pestisida merupakan penyebab berkembangnya penyakit malaria, meningkatkan perlunya dilakukan pencarian obat malaria baru baik dari alam maupun hasil sintesis⁽¹⁾.

Salah satu famili tumbuhan di hutan tropis yang berpotensi sebagai sumber bahan kimia bioaktif dan jumlahnya relatif besar adalah *Moraceae* yang terdiri dari 60 genus dan meliputi 1400 spesies. Genus utama dari famili *Moraceae* adalah *Artocarpus*. Genus ini terdiri dari 50 spesies, dan 30 spesies di antaranya terdapat di Indonesia^(2,3). Berdasarkan studi pustaka, diketahui bahwa sejumlah spesies dari genus *Artocarpus* telah menghasilkan senyawa fenolik terprenilasi, khususnya flavonoid dengan beberapa kekhasan tertentu yang sangat jarang ditemukan pada famili tumbuhan selain *Moraceae*⁽⁴⁾. Keunikan struktur flavonoid pada *Artocarpus* menghasilkan efek fisiologis yang luas, antara lain sebagai antimalaria^(5,6), antibakteri⁽⁷⁾, antifungal⁽⁸⁾, antiinflamasi⁽⁹⁾ dan inhibitor tirosinase⁽¹⁰⁾.

Penelitian fitokimia tumbuhan *Artocarpus* sangat menarik mengingat baru sedikit dari tumbuhan *Artocarpus* yang telah dilaporkan keseluruhan bagiannya. Salah satu spesies tumbuhan dalam genus *Artocarpus* yang banyak tumbuh di Nusa Tenggara Barat (NTB) yaitu *A. camansi* Blanco. Dengan adanya variasi struktur yang unik pada flavonoid dari genus *Artocarpus* dan potensinya sebagai antimalaria serta kajian terhadap kandungan metabolit sekunder kayu batang dan kulit akar *A. camansi* Blanco yang belum pernah dilaporkan, dipandang perlu melakukan penelitian ini.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan tumbuhan berupa kayu batang dan kulit akar dari *Artocarpus camansi* Blanco dikumpulkan dari

Monjok Baru, Mataram, Nusa Tenggara Barat (NTB). Spesies ini diidentifikasi di Dinas Kehutanan Gerung Lombok Barat pada Juni 2009 dan ditetapkan sebagai *Artocarpus camansi*. Bahan tumbuhan terlebih dahulu dibersihkan dari kotoran yang menempel, selanjutnya dikeringkan di bawah sinar matahari, kemudian digiling hingga berupa serbuk. *Plasmodium falciparum*: biakan parasit yang digunakan adalah *Plasmodium falciparum* strain 3D7 yang diperoleh dari TDC Universitas Airlangga, Surabaya, dan *Plasmodium falciparum* strain W2 diperoleh dari Namru-2 (US Naval Medical Research Unit No. 2).

Bahan untuk uji *in vitro* terdiri dari RPMI 1640, *Hepes buffer*, Na bikarbonat, glukosa, gentamisin, serum dan eritrosit manusia, Minyak Imersi, ACD pewarna Giemsa, dapar fosfat (pH 7,2), [3H] hipoksantin, dan DMSO.

Alat. Alat yang digunakan adalah maserator, rotavapor, *laminar air flow*, *incubator*, lemari pendingin, eksikator dengan tempat lilin (*candle jar*), mikroskop dengan gelas obyek, *MSF Assay Template*, penyaring membran *Milipore*, 0,22 μ m.

METODE. Pembuatan ekstrak. Metode pembuatan ekstrak terdiri dari 4 tahap, yaitu pembuatan serbuk, proses ekstraksi, pemisahan pelarut dan tahap pemekatan ekstrak. Bagian kayu batang dan kulit akar *Artocarpus camansi* kering dihaluskan dan diekstrak secara maserasi pada temperatur kamar selama 24 jam dengan pelarut metanol, kemudian disaring. Proses penyarian diulang sampai diperoleh supernatan yang kurang berwarna. Pemisahan pelarut dilakukan menggunakan *rotary evaporator* dan selanjutnya dipekatkan dalam tangas air sehingga menghasilkan ekstrak kental. Ekstrak disimpan dalam lemari pendingin dengan rentang suhu 8-10°C hingga waktu pengujian.

Uji aktivitas antimalaria *in vitro* terhadap *Plasmodium falciparum*. Penelitian ini menggunakan ekstrak metanol kayu batang dan kulit akar *A. camansi* Blanco sebagai bahan uji aktivitas antimalaria. Uji aktivitas antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7 yang dibiakkan secara sinambung dengan metode modifikasi⁽¹²⁾ diperoleh dari TDC Universitas Airlangga, Surabaya. Sementara itu, *Plasmodium falciparum* strain W2 diperoleh dari Namru-2 (US Naval Medical Research Unit No. 2) Jakarta yang dibiakkan dengan medium sintetik RPMI 1640, dapar HEPES, larutan bikarbonat, serum dan sel darah manusia, kemudian diinkubasi dalam eksikator yang berisi Win (*candle jar*). Sebagai pembeding, dalam uji aktivitas antimalaria digunakan klorokuin karena *Plasmodium falciparum* strain W2 resisten terhadap klorokuin sedangkan strain 3D7 masih sensitif terhadap klorokuin⁽¹³⁾. Sebagai kontrol negatif digunakan biakan

berisi suspensi parasit dan media yang mengandung 0,5% DMSO. Untuk membantu kelarutan bahan pada penelitian ini dipakai DMSO dengan batas volume akhir untuk uji konsentrasinya kurang dari 1% karena pada konsentrasi ini pelarut tidak mempengaruhi pertumbuhan parasit. Kadar parasitemia pada awal uji aktivitas antimalaria dibuat $\pm 1\%$. Pada kadar parasitemia yang rendah ini diharapkan parasit dapat tumbuh optimal karena pada kadar yang tinggi parasit dapat mati disebabkan saling berkompetisi untuk mendapatkan nutrisi.

Ekstrak metanol kayu batang dan kulit akar *A. camansi* Blanco diuji aktivitasnya menggunakan lima macam konsentrasi ekstrak, yaitu 100; 10; 1; 0,1; 0,01 $\mu\text{g/mL}$ pada inkubasi selama 48 jam. Uji aktivitas antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7 yang dilakukan di Departemen Farmakognosi & Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya, menggunakan metode mikroskopi⁽¹⁾. Setelah proses inkubasi hapusan tipis diamati dengan bantuan mikroskop perbesaran 1000 kali dan dihitung jumlah eritrosit yang terinfeksi parasit malaria tiap 5000 eritrosit. Selanjutnya, dari hasil tersebut dapat ditentukan persen hambat dan kemudian nilai IC_{50} dihasilkan dari analisis probit dengan program SPSS 11.5.

Uji antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum* strain W2 dilakukan di Namru-2 (US Naval Medical Research Unit No. 2) Jakarta menggunakan metode MSF (*malaria SYBR Green I-based Fluorescence assay*)⁽¹³⁾. Setelah proses inkubasi kemudian ditambahkan larutan *buffer MSF lysis* yang mengandung SYBER Green I ke dalam setiap variasi konsentrasi sampel yang telah diinkubasi.

Skrining Fitokimia. Ekstrak aktif yang diperoleh diskrining kandungan fitokimianya menggunakan metode standar⁽¹¹⁾.

Identifikasi Flavonoid. Ekstrak yang diperoleh dilarutkan dalam metanol panas 50% (12 mL). Setelah itu ditambahkan logam Mg dan HCl pekat (45 tetes). Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid.

Identifikasi Minyak Atsiri. Ekstrak yang diperoleh ditambah dengan etanol, bila berbau enak/aromatik larutan alkoholik tersebut diuapkan kembali hingga kering. Bila residu tetap berbau enak, menunjukkan ekstrak positif mengandung minyak atsiri.

Identifikasi Sterol dan triterpen. Ekstrak yang

diperoleh dilarutkan dalam kloroform (0,5 mL), lalu ditambah dengan asam asetat anhidrat (0,5 mL). Selanjutnya, campuran ini ditetesi dengan H_2SO_4 pekat (12 mL) melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpen, sedangkan munculnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya sterol.

Identifikasi Kumarin. Ekstrak yang diperoleh dilarutkan dengan air panas, setelah dingin larutan dibagi dalam 2 tabung reaksi, yaitu tabung 1 sebagai blanko, dan tabung 2 ditambah NH_3 10% (0,5 mL). Pijaran kuat yang terbentuk di bawah sinar UV menunjukkan adanya kumarin dan turunannya.

Identifikasi Tannin. Ekstrak yang diperoleh dilarutkan dalam air (12 mL) dan ditambahkan larutan FeCl_3 (2 tetes), timbulnya warna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tannin galat dan jika warnanya hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tannin katekol.

Identifikasi Saponin. Ekstrak yang diperoleh diletakkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan air (1 : 1) sambil dikocok selama 5 menit. Terbentuknya busa yang dapat bertahan selama 30 menit menunjukkan adanya senyawa saponin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas *in vitro* terhadap *Plasmodium falciparum* dilakukan sebagai uji pendahuluan untuk mengevaluasi bahan alam hayati yang diduga memiliki aktivitas antimalaria. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antimalaria ekstrak metanol kayu batang dan kulit akar *A. camansi* Blanco terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7 (*strain* yang masih sensitif klorokuin) dan strain W2 (*strain* yang resisten klorokuin).

Hasil uji aktivitas antimalaria ekstrak metanol kayu batang dan kulit akar *A. camansi* Blanco terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7 dengan metode mikroskopi adalah sebagaimana terlihat pada Tabel 1.

Dari data pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak metanol kayu batang *A. camansi* Blanco dapat menghambat 83,01% pertumbuhan parasit, sementara ekstrak metanol kulit akar *A. camansi* Blanco hanya menghambat 76,54% pertumbuhan parasit. Perbedaan kemampuan menghambat pertumbuhan parasit *Plasmodium*

Tabel 1. Ringkasan persen hambatan pertumbuhan *Plasmodium falciparum* strain 3D7 dan hasil analisis probit dengan program SPSS 11.5.

Bahan uji (<i>A. camansi</i> Blanco.)	% Hambatan pada konsentrasi uji ($\mu\text{g/mL}$)					IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
	100	10	1	0,1	0,01	
Ekstrak Kayu batang	83.01	79.69	50.81	13.84	0.73	1.83654
Ekstrak Kulit akar	76.54	22.22	3.93	2.70	1.13	32.13467

falciparum strain 3D7 sangat terlihat pada konsentrasi 1 µg/mL. Pada konsentrasi ini ekstrak metanol kayu batang *A. camansi Blanco* dapat menghambat 50,81% pertumbuhan parasit, sementara ekstrak metanol kulit akar *A. camansi Blanco* hanya menghambat 3,93% pertumbuhan parasit. Perhitungan nilai IC_{50} dari data persen menghambat menggunakan analisis probit dengan program SPSS 11.5 dapat dilihat dalam Gambar 1.

Dari kurva tersebut diketahui nilai IC_{50} ekstrak metanol kayu batang dan kulit akar *A. camansi Blanco* pada uji antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum strain 3D7* berturut-turut sebesar 1,84 µg/mL dan 32,13 µg/mL. Nilai IC_{50} ini menunjukkan besarnya konsentrasi masing-masing bahan yang dapat menghambat 50% pertumbuhan parasit. Dari nilai IC_{50} tersebut diketahui bahwa kayu batang *A. camansi Blanco* memiliki sifat antimalaria yang lebih aktif dibanding kulit akarnya. Berdasarkan nilai IC_{50} tersebut diketahui pula bahwa sifat antimalaria ekstrak metanol kayu batang *A. camansi Blanco* lebih aktif terhadap *strain 3D7* dibandingkan klorokuin (IC_{50} 15,12 µg/mL)⁽¹³⁾.

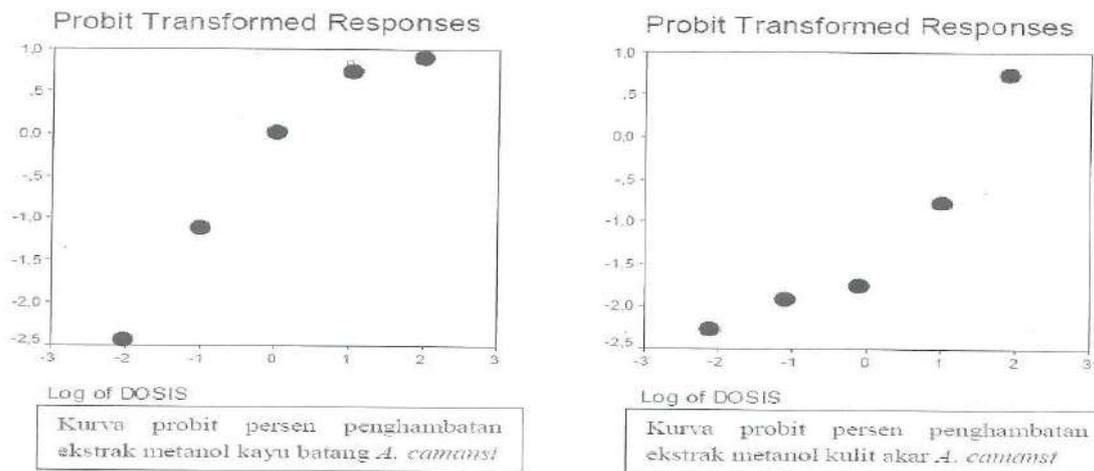
Uji aktivitas antimalaria ekstrak metanol kayu batang dan kulit akar *A. camansi Blanco* terhadap *Plasmodium falciparum strain W2* dengan metode MSF. Data nilai IC_{50} dihasilkan dalam bentuk MS Excel setelah dianalisis menggunakan *Graph Prism* (San Diego,

Ca) software (Tabel 2).

Nilai IC_{50} ekstrak metanol kayu batang *A. camansi Blanco* lebih kecil dibanding IC_{50} ekstrak metanol kulit akarnya dan senyawa standar klorokuin, baik pada uji terhadap *P. falciparum strain 3D7* maupun *strain W2*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol kayu batang *A. camansi Blanco* memiliki aktivitas antimalaria yang lebih aktif daripada kulit akarnya dan senyawa standar klorokuin terhadap *P. falciparum strain 3D7* maupun *strain W2*. Dari perbandingan nilai IC_{50} diketahui pula bahwa ekstrak metanol kulit akar *A. camansi Blanco* memiliki sifat yang lebih aktif daripada senyawa standar klorokuin terhadap *P. falciparum strain W2*, tetapi kurang aktif dibandingkan senyawa standar klorokuin terhadap *P. falciparum strain 3D7*.

Dari Tabel 2 di bawah diketahui nilai IC_{50} ekstrak metanol kayu batang dan kulit akar *A. camansi Blanco* pada uji antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum strain W2* berturut-turut sebesar 8.11 µg/mL dan 17.10 µg/mL. Menurut Kohler⁽¹⁴⁾ ekstrak dengan nilai $IC_{50} < 50$ µg/mL efektif sebagai antimalaria, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol kayu batang dan kulit akar *A. camansi Blanco* aktif terhadap *Plasmodium falciparum strain 3D7* dan *W2*.

Analisis metabolit sekunder terhadap ekstrak metanol kayu batang dan kulit akar *A. camansi*



Gambar 1. Kurva hubungan probit persen penghambatan dengan konsentrasi ekstrak metanol kayu batang dan kulit akar *A. camansi Blanco*.

Tabel 2. Hasil MSF assay *Plasmodium falciparum strain W2*.

Bahan uji (<i>A. camansi Blanco</i> .)	Variabel slope	Bottom	Top	Log IC_{50}	Hill Slope	IC_{50} (µg/mL)
Ekstrak kayu batang	-	7080	37886	0.9088	-3.042	8.106
Ekstrak kulit akar	Ambiguous	21234	39036	1.2330	-39.340	17.100

Blanco berhasil mengidentifikasi golongan senyawa flavonoid, terpenoid, dan tannin yang terdapat pada bagian kayu batang dan kulit akar *A. camansi* Blanco, sementara golongan senyawa kumarin dan saponin hanya terdapat dibagian kulit akar *A. camansi* Blanco. Dari hasil tersebut terlihat bahwa kulit akar *A. camansi* Blanco memiliki kandungan metabolit sekunder yang lebih beragam dibandingkan kayu batangnya. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh fungsi dari akar tumbuhan yang berguna untuk menyerap mineral dari dalam tanah. Secara kemitoksonomi hasil analisis metabolit sekunder dalam penelitian ini telah sesuai untuk genus *Artocarpus* yang terkenal mengandung senyawa golongan flavonoid.

SIMPULAN

Hasil uji aktivitas antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum strain 3D7* menunjukkan bahwa kedua ekstrak metanol kayu batang dan kulit akar *A. camansi* Blanco, bersifat aktif antimalaria dengan nilai IC_{50} berturut-turut 1,84 $\mu\text{g/mL}$ dan 32,13 $\mu\text{g/mL}$. Demikian pula terhadap *Plasmodium falciparum strain W2*, kedua ekstrak metanol bersifat aktif dengan nilai IC_{50} berturut-turut 8,11 $\mu\text{g/mL}$ dan 17,10 $\mu\text{g/mL}$.

Nilai IC_{50} ekstrak metanol kayu batang *A. camansi* Blanco lebih kecil dibandingkan ekstrak metanol kulit akarnya dan senyawa standar klorokuin (IC_{50} 15,12 $\mu\text{g/mL}$), baik pada uji terhadap *P. falciparum strain 3D7* maupun *strain W2*.

Uji fitokimia menunjukkan bahwa flavonoid, terpenoid, dan tannin terdapat pada bagian kayu batang dan kulit akar *A. camansi* Blanco, sementara senyawa kumarin dan saponin hanya terdapat pada bagian kulit akar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh dana penelitian hibah kompetitif penelitian sesuai prioritas nasional, Dikti. Terima kasih disampaikan kepada Dr. Aty Widyawaruyanti, MSi., Apt. dari Unair dan Awalludin Sutamihardja dari Namru 2 yang telah membantu memberikan fasilitas selama pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sutamihardja A, Krisin, Wangsamuda S, Rogers WO. Buku Panduan Pelatihan Diagnosa Mikroskopi Malaria. Departemen Parasitologi Medis US NAMRU-2 Jakarta. 2009.
2. Jaret FM. Studies in Artocarpus and allied genera, III. A revision of Artocarpus subgenus Artocarpus. Journal of Arnold Arboretum. 1959. Vol XL, No. 2.
3. Jaret FM. Studies in Artocarpus and allied genera, IV. A revision of Artocarpus subgenus Pseudojaca. Journal of Arnold Arboretum. 1960. Vol XLI, No. 1 dan 2.
4. Achmad SA, Hakim EH, Makmur L, Mujahidin D, Marlina E, Gihisalberty EL. Artocarpin dan Heteroflavanon A, Dua Senyawa Flavonoid Bioaktif dari *Artocarpus champeden*. Proc ITB. 1998. 30-1.
5. Widyawaruyanti A, Subehan, Kalauni SK, Awale S, Nindatu M, Zaini NC, Syafruddin D, Asih PBS, Tezuka Y, Kadota S. New prenylated flavones from *Artocarpus champeden*, and their antimalarial activity in vitro, Journal Natural Medicine. 2007. 61: 410-3.
6. Boonlaksiri C, Oonanant W, Kongsaree P, Kittakoo P, Tanticharoen M, Thebtaranonth Y. An antimalarial stilbene from *Artocarpus integer*. Phytochemistry. 2000. 54: 415-7.
7. Khan MR, Omoloso AD, Kihara M. Antibacterial activity of *Artocarpus heterophyllus*, Fitoterapia. 2003. 74: 501-5.
8. Jayasinghe L, Balasooriya BAIS, Padmini WC, Hara N, Fujimoto Y. Geranyl chalcone derivatives with antifungal and radical scavenging properties from the leaves of *Artocarpus nobilis*, Phytochemistry. 2004. 65: 1287-90.
9. Fang SC, Hsu CL, Yen GC. Anti-inflammatory Effects of Phenolic Compounds Isolated from the Fruits of *Artocarpus heterophyllus*. J Agric Food Chem. 2008. 56: 4463-8.
10. Zheng ZP, Chen S, Wang S, et. al. Chemical Components and Tyrosinase Inhibitors from the Twigs of *Artocarpus heterophyllus*, J Agric Food Chem. 2009. 57: 6649-55
11. Ciulei J. Metodologi for Analisis of Vegetables and Drugs. Faculty of Pharmacy. Bucharest Rumania. 1984. 11-26.
12. Trager W, Jensen JB. Human Malaria Parasites in Continues Culture. Science. 1976. 193: 673-6.
13. Johnson J, Waters NC. Malaria SYBR Green I-based Florescence Assay. Silver Spring. Maryland. 2006.
14. Kohler I. In Vitro Antiplasmodial Investigation of Medicinal Plants from El Savador. Z. Naturforsch. 2002. 57c: 277-8.