

Mekanisme dan Aktivitas Antimalaria dari Senyawa Flavonoid yang Diisolasi dari Cempedak (*Artocarpus Champeden*)

(Antimalarial Activity and Mechanism of Action of Flavonoid Compounds Isolated from *Artocarpus Champeden* Spreng Stembark)

Aty Widayawaruyanti*, Noer Cholis Zaini*, Syafruddin**

ABSTRACT

This study was aimed to monitor Flavonoid Compound activity and mechanism as antimalaria that isolated from *A. Champeden*. Two new prenylated flavones, 5,7,2',5'-tetrahydroxy-4'-methoxy-3-prenylflavone and 5,7,2',4'-tetrahydroxy-8-prenylfuranodihydrobenzoxanthone, named after artocarpones A and B respectively, have been isolated from the stembark of *Artocarpus champeden*, together with six known isoprenylated flavonoids: artonin A, cycloheterophyllin, heterophyllin, artoindonesianin R, heteroflavanone C, artoindonesianin A-2, and one flavanone artoindonesianin E. Their structures were determined on the basis of spectroscopic analysis. The isolated compounds were all tested for their antimalarial activity against the growth of *Plasmodium falciparum* 3D7 in vitro and the results indicated that all but one compound, artoindonesianin E (IC₅₀ = 75.76 μM), inhibited the parasite growth significantly. The highest antimalarial activity was shown by heteroflavanone C (IC₅₀ = 0.001 μM). An attempt to determine its mechanism of action by using sorbitol-induced hemolysis inhibitory assay revealed that artoindonesianin R, artocarpone A and artoindonesianin A-2 showed hemolysis inhibition over 60% and, therefore, identified as inhibitor of the NPP of the infected erythrocyte. The results indicated that flavonoid compounds from this *A. champeden* exhibited potent antimalarial activity through either inhibition of the parasite inducing new permeation pathway or other yet unidentified mechanism. Therefore, the compounds are potential to be developed as new antimalarial drugs, through phytopharmaceutical product of its stembark or synthesized products of the compounds.

Key words: *Artocarpus champeden* stembark, *Plasmodium falciparum*, isoprenylated flavonoids, antimalarial activity, sorbitol-induced hemolysis assay

PENDAHULUAN

Penyakit malaria pada saat ini menjadi masalah kesehatan masyarakat di lebih dari 90 negara, yang dihuni oleh 2,4 milyar penduduk atau 40% populasi penduduk dunia. WHO melaporkan, 300–500 juta kasus klinis dan 1,5 juta kematian setiap tahunnya. Hampir setengah dari populasi penduduk dunia berisiko terkena penyakit malaria, risiko mortalitas tertinggi dialami oleh anak-anak di bawah 5 tahun dan wanita hamil (Burke, *et al.*, 2003; Saxena, *et al.*, 2003). Di Indonesia, menurut hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2001, terdapat 70 juta penduduk yang tinggal di daerah endemik malaria dan 56,3 juta penduduk diantaranya tinggal di daerah endemik malaria sedang sampai tinggi. Meskipun insiden malaria sejak tahun 2000 cenderung menurun, tetapi masih terjadi Kejadian Luar Biasa (KLB = *outbreak*) malaria pada 7 Provinsi yang menyerang 35 desa dan menyebabkan

kematian sebesar 211 orang penduduk (DepKes, 2004).

Tumbuh dan menyebarnya resistensi terhadap semua obat antimalaria lapis pertama (*front-line antimalarial compound*) yang dipakai pada pengobatan dan pencegahan malaria telah menimbulkan banyak masalah pada program penanggulangan malaria. Seiring dengan belum berhasilnya upaya-upaya untuk menemukan vaksin malaria yang ideal, maka aktivitas riset yang bertujuan untuk mengidentifikasi target intervensi kemoterapi dan penemuan obat baru akan tetap menjadi tujuan utama dalam upaya penanggulangan malaria. (Burke, *et al.*, 2003; Syafruddin, *et al.*, 2004).

Penelitian untuk mendapatkan obat antimalaria baru, baik obat-obatan sintesis maupun yang berasal dari bahan alam, khususnya dari tumbuhan masih terus berlanjut. Penelitian terhadap bahan alam dalam usaha menemukan senyawa baru antimalaria dilakukan secara intensif oleh para peneliti di dunia pada dasawarsa terakhir ini.

* Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

** Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

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 (Iwasaki & Ogata, 1995; Hakim, 1998; Hakim, et al., 1999, 2006). Buah *Artocarpus champeden* yang berbau harum dan rasanya manis digunakan sebagai bahan pangan sedangkan kayunya sering digunakan untuk bahan bangunan. Tanaman ini tumbuh terpusat di Asia Tenggara, di Indonesia banyak ditemukan terutama di Jawa Barat, Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Maluku dan Papua (Heyne, 1987).

Ekstrak metanol kulit batang *A. champeden* dan fraksi klorofom dari ekstrak metanol menunjukkan adanya aktivitas antimalaria pada mencit terinfeksi *P. berghei* (Dhani, 2003; Agriana, 2003). Penelitian Zaini, et al., 2005 melaporkan bahwa ekstrak diklorometana kulit batang *A. champeden* ini juga menghambat pertumbuhan parasit *in vitro* pada kultur *Plasmodium falciparum* dengan $IC_{50} = 0,99 \mu\text{g/ml}$ dan *in vivo* pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dapat menghambat pertumbuhan parasit hal tersebut diduga kulit batang tanaman *A. champeden* mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas antimalaria dan potensial untuk diisolasi lebih lanjut serta dikembangkan sebagai obat antimalaria.

A. champeden Spreng mengandung suatu campuran yang kompleks dari berbagai jenis flavonoid yaitu jenis: flavanon, flavon, 3-prenilflavon, piranoflavon, oksepinoflavon, dihidrobenzosanton dan furanodihid robenzosanton. Selain itu pada tanaman ini juga telah ditemukan adanya senyawa terpenoid jenis triterpen, yaitu sikloartenon, 24-metilensikloartenon, sikloekalenol, glutinol dan senyawa steroid β -sitosterol (Syah, et al., 2002; Achmad, et al., 2004; Hakim, et al., 2006).

Senyawa golongan flavonoid merupakan metabolit sekunder yang banyak terdapat dalam tumbuhan dan aktivitas antimalaria dari senyawa golongan ini telah banyak dilaporkan (Saxena, et al., 2003). Likokhalkon A, senyawa flavonoid yang diisolasi dari akar "chinese licorice" diketahui dapat menghambat pertumbuhan parasit *P. falciparum* baik yang sensitif maupun resisten terhadap klorokuin juga dapat melindungi mencit dari infeksi malaria pada uji *in vivo* (Chen, et al., 1994). Telah diketahui pula bahwa suatu senyawa flavonoid dari tanaman *Artocarpus integer*, yaitu senyawa stilbene terprenilasi, dapat menghambat pertumbuhan parasit pada kultur *in vitro* *P. falciparum* (Boonlaksiri, et al., 2000).

Pengembangan dan penemuan obat antimalaria diharapkan dapat menyediakan obat baru dengan mekanisme dan target obat yang potensial dan aman bagi manusia. Beberapa pustaka menyebutkan bahwa senyawa bioflavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan parasit memiliki mekanisme aksi dengan dua target utama yaitu: 1) membran yang dibentuk parasit malaria stadium intraeritrositik yaitu Jalur Permeasi Baru (NPP = *New Permeation Pathway*) dengan cara menghambat transport nutrisi yang dibutuhkan parasit (Sherman, 1998; Kirk, 2001, 2004) dan 2) vakuola makanan parasit malaria yaitu dengan menghambat proses degradasi hemoglobin dan detoksifikasi heme (Biagini, et al., 2003; Frolich, et al., 2005; Bilia, et al., 2006).

Selama invasi oleh parasit malaria, sel eritrosit inang mengalami peningkatan permeabilitas terhadap berbagai bahan terlarut (*solutes*) termasuk asam amino, senyawa-senyawa polyol, peptida-peptida rantai pendek, nukleosida pirimidin dan purin, anion/kation organik/inorganik, serta beberapa bahan terlarut sederhana lainnya seperti sorbitol, kolin, ion klorida dan treonin. Peningkatan permeabilitas ini memperlihatkan ciri-ciri fungsional yang spesifik yang sangat berbeda dengan sistem transport pada eritrosit normal. Sistem transport pada eritrosit yang terinfeksi parasit diperantarai oleh Jalur Permeasi Baru (*New Permeation Pathway* = *NPP*), yang mempunyai karakteristik sebagai saluran yang selektif terhadap anion (*anion-selective channels*) dan permeabel terhadap berbagai bahan kimia terlarut yang umumnya sangat dibutuhkan oleh parasit untuk pertumbuhannya (Sherman, et al., 1998; Kirk, et al., 2001; Go, et al., 2004).

Berdasarkan hal tersebut, jelas bahwa hambatan pada sistem transport *NPP* ini dapat menjadi target bagi obat-obatan antimalaria. Obat antimalaria yang bekerja, baik sebagai inhibitor transporter parasit maupun inhibitor *NPP*, dapat mengakibatkan parasit kehilangan nutrisi esensial yang dibutuhkannya untuk tumbuh dan berkembang (Sherman, et al., 1998; Kirk, et al., 2001, Biagini, et al., 2003). Senyawa bioflavonoid seperti glikosida phlorizin dan phloretin yang merupakan aglikon dari phlorizin diketahui juga mempunyai efek antiplasmodial dengan mekanisme aksi menghambat sistem transport *NPP* ini (Kutner, 1987; Silfen, et al., 1988; Kanaani, Ginsburg H, 1992). Hasil penelitian ini diperkuat oleh Go, et al. (2004) yang meneliti efek dari senyawa antiplasmodial jenis khalkon terhadap penurunan tingkat hemolisis dari eritrosit terinfeksi *P. falciparum* karena adanya induksi oleh sorbitol.

Tujuan penelitian ini untuk meneliti efek senyawa flavonoid dari *A. champeden* terhadap jalur transport baru,

yaitu Jalur Permeasi Baru (*NPP* = *New Permetion Pathway*) dari membran eritrosit yang terbentuk karena adanya infeksi parasit malaria stadium intraeritrositik.

MATERI DAN METODE

Kulit batang cempedak (*A. champeden*) yang diperoleh dari desa Makbalim, distrik Salawati, Kabupaten Sorong, Irian Jaya, pada bulan Agustus 2004 dan telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bogor, Jawa Barat. Kulit batang cempedak dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka. Setelah kering kemudian diserbuk sampai halus.

Isolat beku *P. falciparum* galur 3D7 Parasit malaria *Plasmodium falciparum* galur 3D7 yang diperoleh dari Laboratorium Malaria, Lembaga Biologi Molekuler Eijkman, Jakarta.

Spektrometer RMI (JEOL JNM-LA400) dengan tetrametilsilan sebagai standar internal. Spektrometer HR-FABMS (JEOL JMS-700T) dengan matriks gliserol. Spektrometer UV-Vis (Perkin-Elmer). Kolom kromatografi dilakukan menggunakan BW-802MH silika gel (Fuji Silysia, Aichi, Japan). KLT preparatif dan kualitatif dilakukan pada lempeng silika gel 60F₂₅₄ dan RP-18 F₂₅₄ (Merck, Hohenbrunn, Germany; ketebalan 0,25 atau 0,55 mm).

Ekstraksi dan Isolasi Kulit Batang Cempedak

Serbuk kulit batang cempedak (1,5 kg) diekstraksi bertahap berturut-turut menggunakan pelarut n-heksana dan diklorometana. Ekstrak diklorometana dikumpulkan dan diuapkan menggunakan vakum evaporator hingga diperoleh ekstrak kering diklorometana (**DE**).

Terhadap ekstrak diklorometana kulit batang cempedak (11,7 g) ini dilakukan fraksinasi menggunakan kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel-60, fase gerak n-heksana: etil asetat bergradien mulai dari n-heksana 100%, 99%, 98%, 95%, 90%, 80%, 60%, 40%, 20%, 0% dan dilanjutkan dengan pelarut campuran kloroform-metanol bergradien: 20%, 30%, 40%, 100% metanol. Dari fraksinasi ini diperoleh 12 fraksi utama.

Pada kromatogram hasil KLT ke 12 fraksi menunjukkan adanya spot berwarna kuning oranye dengan penampak noda serri-sulfat 1% pada fraksi DE8 (0,3 g) dan DE9 (4 g). Hal ini menandakan bahwa pada kedua fraksi ini mengandung senyawa golongan flavonoid. Oleh karena itu, terhadap fraksi DE8 dan DE9 ini selanjutnya dilakukan uji aktivitas antimalaria dan isolasi bahan aktifnya.

Terhadap fraksi DE8, dilakukan fraksinasi lebih lanjut dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak campuran kloroform-metanol bergradien mulai dari 2%, 5%, 10%, 30% dan 100%. Dari fraksinasi ini diperoleh 6 subfraksi utama. Terhadap fraksi DE8.5 yang diperoleh dari pemisahan ini dilakukan fraksinasi kembali menggunakan KLT preparatif dengan fase diam RP-18 dan fase gerak asetoni-tril-metanol-air (4:2:1 v/v). Sedangkan dari pemurnian DE8.5 ini diperoleh senyawa **9** (2,52 mg) dan **7** (4,73 mg). Identifikasi secara KLT dengan penampak noda serri-sulfat 1% (berwarna kuning kecoklatan sampai oranye) menunjukkan bahwa kedua senyawa ini merupakan senyawa golongan flavonoid.

Terhadap fraksi DE9 (4 gram) dilakukan fraksinasi menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam *reverse phase* ODS dan fase gerak asetoni-tril-metanol-air (2:2:1) menghasilkan 4 fraksi utama DE9.1 (155 mg), DE9.2 (1,5 gram), DE9.3 (193 mg), DE9.4 (300 mg). Hasil KLT dari fraksi DE9.2 dan DE9.3 dengan fase gerak CHCl₃-MeOH 5%, fase diam silika gel, menunjukkan spot berwarna kuning-oranye dengan penampak noda serri-sulfat 1%. Selanjutnya terhadap fraksi DE9.2 dilakukan fraksinasi kembali menggunakan kolom kromatografi dengan fase diam silika gel-GF254 dan fase gerak kloroform-metanol bergradien 1-50% metanol, sehingga diperoleh 5 fraksi utama DE9.2.1 (867 mg), DE9.2.2 (72,4 mg), DE9.2.3 (91,4 mg), DE9.2.4 (99,2 mg), dan DE9.2.5 (51 mg). Selanjutnya terhadap fraksi DE9.2.1 dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam silika gel dan fase gerak kloroform-metanol. Dari hasil pemisahan ini diperoleh 12 fraksi utama. Selanjutnya terhadap fraksi DE9.2.1 ini dilakukan fraksinasi kembali menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam silika gel dan fase gerak kloroform-metanol. Dari fraksi 9.2.1. ini diperoleh senyawa **1** (3,0 mg), senyawa **5** (7,1 mg), senyawa **2** (1,8 mg) dan **6** (8,6 mg). Terhadap fraksi DE9.2.2 juga dilakukan fraksinasi kembali menggunakan KLT preparatif dengan fase diam RP18 dan fase gerak asetoni-tril-metanol-air (2:2:1), dan diperoleh 10 fraksi. Hasil KLT fraksi 9.2.2.8 dengan fase gerak asetoni-tril-metanol-air (2:2:1) hanya menunjukkan satu spot dari senyawa **3** (7,1 mg). Selanjutnya dari fraksi 9.2.2.7. dilakukan pemisahan kembali menggunakan KLT preparatif dengan fase diam silika gel dan fase kloroform-metanol 5% dan diperoleh senyawa **8** (1,63 mg). Terhadap fraksi DE9.2.3 juga dilakukan pemisahan menggunakan KLT preparatif dengan fase diam RP18 dan fase gerak asetoni-tril-metanol-air (1:1:1). Dari hasil pemisahan ini diperoleh 5 fraksi dan pada pemurnian selanjutnya diperoleh senyawa **4** yang berwarna kuning (6,95 mg).

Isolat yang diperoleh dari hasil pemisahan ini selanjutnya diidentifikasi dengan menggunakan metode spektrometri FTIR, RMI, HRFAB-MS dan polarimeter.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktifitas masing-masing kandungan lendir cempedak sebagai anti malaria.

Prosedur Uji Aktivitas Antimalaria *In Vitro*

Pada uji aktivitas *in vitro* digunakan *P. falciparum* strain 3D7 yang sensitif terhadap kloroquin. Secara prinsip uji aktivitas dilakukan dengan cara berikut: bahan uji (10 mg untuk fraksi dan 1 mg untuk isolat) yang dihasilkan dari proses isolasi kulit batang *A. champeden* Spreng dilarutkan dalam 100 μ l pelarut DMSO. Kemudian dimasukkan ke dalam lempeng sumur mikro dengan 24 lubang dan dilakukan serial pengenceran sampai diperoleh konsentrasi akhir sebesar 0,01; 0,1; 1; 10 dan 100 μ g/ml untuk ekstrak dan fraksi, sedangkan untuk isolat dibuat konsentrasi 0,001; 0,01; 0,1; 1 dan 10 μ g/ml. Kemudian ditambahkan suspensi parasit dengan kadar parasitemia 1% dan hematokrit 5%. Setelah inkubasi selama 48 jam pada suhu 37° C. Kultur kemudian dipanen dan dibuat sediaan lapisan darah tipis dengan pewarnaan giemsa 10%. Uji ini dilakukan dua kali replikasi. Selanjutnya dihitung persentase parasitemia dan persentase hambatan pertumbuhan *P. falciparum* dengan menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi setiap 5000 eritrosit di bawah mikroskop.

Untuk menentukan nilai IC_{50} digunakan analisis probit dengan membuat kurva hubungan antara probit (*probability unit*) prosentase penghambatan dengan logaritma kadar menggunakan persamaan garis regresi linier. Nilai IC_{50} adalah kadar bahan uji dimana persentase penghambatan terhadap pertumbuhan parasit sebesar 50%.

Uji hambatan hemolisis eritrosit terinfeksi parasit yang diinduksi oleh sorbitol

Pada metode ini diukur derajat hemolisis dari eritrosit terinfeksi parasit yang disebabkan (diinduksi) penambahan sorbitol. Derajat hemolisis diukur dengan menggunakan alat spektrofotometri, dengan mengamati nilai absorbansi yang muncul pada λ 540 nm. Semakin kecil absorbansi yang diperoleh maka semakin kecil derajat hemolisis dan ini menunjukkan terjadinya hambatan terhadap masuknya sorbitol melalui NPP pada membran eritrosit terinfeksi parasit (Go, *et al.*, 2004).

Suspensi sel eritrosit dengan parasit *P. falciparum* pada stadium trofozoit dipanen (setelah inkubasi 36–44 jam dengan tingkat parasitemia \pm 5–10%) dan kemudian disentrifus (600 \times g, selama 5 menit, pada suhu 27° C).

Setelah dilakukan pencucian dua kali dengan larutan NaCl (150 nM)-HEPES (20 nM) (pH 7,4; 304 mosM), kemudian disuspensikan ke dalam larutan yang sama sampai diperoleh hematokrit 50%.

Bahan uji sebanyak 1 mg dilarutkan di dalam 100 μ l DMSO (dimetilsulfoksida), kemudian dilakukan pengenceran dengan larutan bufer HEPES-sorbitol sehingga didapatkan konsentrasi 50 μ g/100 μ l.

Bahan uji sebanyak 100 μ l ditambah 700 μ l larutan bufer HEPES-sorbitol yang sama diinkubasi dengan 200 μ l suspensi parasit selama 15 menit pada suhu 37° C. Setelah masa inkubasi, campuran disentrifus dan supernatan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada λ 540 nm untuk menentukan jumlah hemoglobin yang dilepas dan tingkat hemolisisnya. Dilakukan juga pengukuran absorbans pada supernatan kontrol negatif (tanpa obat, hanya mengandung bufer HEPES-Sorbitol dan suspensi parasit) serta blanko (yang hanya mengandung bahan obat dalam bufer HEPES-sorbitol).

Menurut Go *et al.* (2004), bahan uji yang memberikan tingkat hemolisis kurang dari 40% menunjukkan adanya aktivitas hambatan hemolisis eritrosit terinfeksi parasit. Hambatan pada hemolisis eritrosit terinfeksi parasit menunjukkan hambatan jalur permeasi baru (NPP).

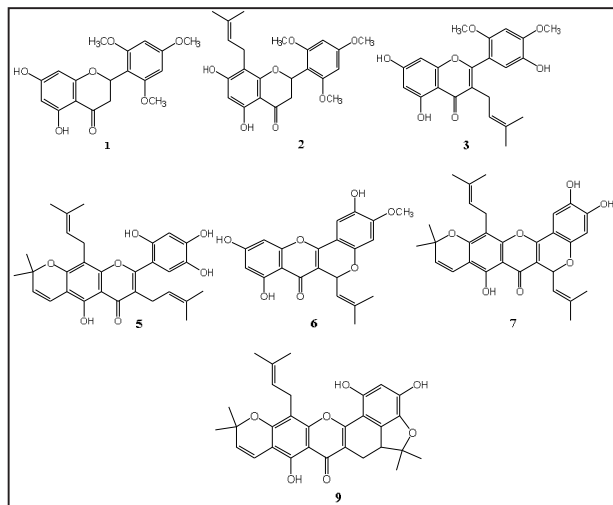
HASIL DAN DISKUSI

Identifikasi struktur senyawa hasil isolasi ekstrak diklorometana *A. champeden*

Isolasi terhadap ekstrak diklorometana kulit batang cempedak (*A. champeden* Spreng) menghasilkan 9 senyawa dan dua diantaranya baru. Struktur molekul ke sembilan senyawa ini ditentukan menggunakan analisa spektroskopi dan dengan membandingkan data spektroskopi tersebut dengan pustaka. Senyawa yang sudah dikenal diidentifikasi sebagai artoindonesianin E [1] (Hakim, dkk., 2006), heteroflavanon C [2] (Lu & Lin, 1994), artoindonesianin R [3] (Syah, dkk., 2002), heterofillin [5] (Syah, dkk., 2004), dan artoindonesianin A-2 [6] (Syah, dkk., 2006), sikloheterofillin [7] (Syah, dkk., 2002; 2004), artonin A [9] (Hano, 1989). Berikut adalah gambar struktur senyawa tersebut.

Senyawa 4, diperoleh dalam bentuk serbuk berwarna kuning-oranye. Tabel 1 berikut ini menunjukkan data spektrum RMI-¹H dan -¹³C senyawa 4.

Adanya sinyal doublet pada pergeseran kimia δ 6.16 dan 6.24 dengan kopling konstan masing-masing $J = 2.2$ Hz, khas untuk proton pada C-6 and C-8 dari ring aromatis yang berkaitan dengan adanya substitusi 5,7-dihidroksi



Gambar 1. Struktur molekul senyawa 1,2,3,5,6,7,9 hasil isolasi dari kulit batang cempedak (*A. Champeden*).

dari cincin A senyawa flavon. Demikian juga dengan dua buah sinyal singlet pada δ 6.51 and 6.67, merupakan sinyal yang khas untuk proton pada ring B (H-3' dan H-6') flavon yang mengalami substitusi pada C-2', 4', dan 5'. Sebagai tambahan, satu buah singlet pada δ 3.87 juga menunjukkan adanya gugus metoksi pada senyawa **4**. Posisi gugus metoksi ini dipertegas dari spektra korelasi jarak jauh ^1H - ^{13}C (HMBC) antara sinyal proton pada δ 3.87 dan karbon pada 151.59 (C-2').

Spektrum RMI- ^1H dari **4** juga memperlihatkan adanya sinyal untuk rantai isoprenil pada pegeseran kimia δ 1.38 (s, 3H, H-13), 1.59 (s, 3H, H-12), 3.08 (d, $J = 6.8$, 2H, H-9), dan 5.10 (m, 1H, H-10). Korelasi jarak jauh ^1H - ^{13}C (HMBC) menunjukkan adanya hubungan antara proton metilen pada δ 3.08 (H-9) dan karbon pada δ 121.85 (C-3), 162.71 (C-2), dan 183.54 (C-4) menunjukkan bahwa posisi rantai isoprenil tersubstitusi pada C-3. Spektrum RMI- ^{13}C dari **4** memperlihatkan adanya sinyal dari 21 buah karbon termasuk karbon dari karbonil keton δ 183.54

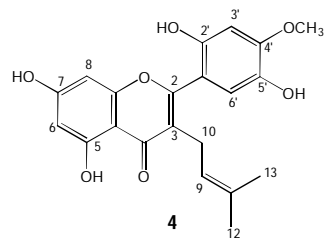
Data spektrum RMI **4** ini mirip dengan **3** yang diperoleh dari ekstrak yang sama, hanya saja pada **4** kehilangan satu gugus metoksi dari dua gugus metoksi yang ada pada **3**. Hasil analisis HMBC menunjukkan bahwa senyawa **4** berbeda dengan **3** dari substituen pada ring B, dimana pada senyawa **4** terdapat substitusi gugus hidroksil (-OH) pada C-2' menggantikan gugus metoksi.

Berdasarkan spektrum HR-FABMS mempunyai rumus molekul $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_7$. Data spektroskopi IR menunjukkan adanya pita gelombang pada 3400 and 1650 cm^{-1} yang berturut-turut menandakan adanya gugus hidroksil (-OH) dan karbonil (-C=O).

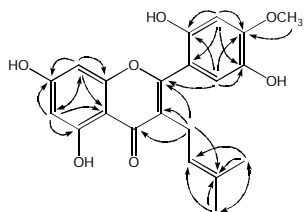
Tabel 1. Data Spektrum RMI- ^1H dan ^{13}C senyawa **4**

Karbon	δH (CDCl_3)	δC (CDCl_3)
2	-	162.71
3	-	121.85
4	-	183.54
4a	-	105.80
5	-	159.75
6	6.16 (d, $J = 2.2$)	94.98
7	-	165.37
8	6.24 (d, $J = 2.2$)	99.48
8a	-	163.17
9	3.08 (2H, d, $J = 6.8$)	24.83
10	5.10 (m)	122.76
11	-	132.62
12	1.59 (s)	25.94
13	1.38 (s)	17.70
14	-	-
15	-	-
16	-	-
17	-	-
18	-	-
19	-	-
20	-	-
21	-	-
22	-	-
23	-	-
1'	-	112.85
2'	-	149.75
3'	6.51 (s)	101.34
4'	-	151.59
5'	-	140.29
6'	6.67 (s)	117.01
OMe	3.87	56.31
OH	-	-

Berdasarkan hasil analisis spektroskopi ini, maka struktur senyawa **4** dapat disarankan seperti pada gambar berikut.



Dari hasil penelusuran pustaka, dapat dinyatakan bahwa senyawa **4** merupakan senyawa baru dengan nama **artokarpon A** (Widyawaruyanti, dkk., 2007^a). Korelasi jarak jauh ^1H - ^{13}C dari senyawa **4** dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Spektrum RMI-¹H **8** menunjukkan adanya sinyal dari proton aromatik pada δ 6.45 (1H, s) and 6.23 (1H, s). Analisa lanjutan dengan korelasi COSY, HMBC, and HMQC menunjukkan bahwa sinyal ini berkaitan dengan H-6 dan H-3' dari kerangka flavon (**Hakim**, dkk., 1999; **Syah**, dkk., 2002).

Spektra RMI-¹H juga menunjukkan adanya resonansi dari dua buah gugus meta (δ 1.33 dan 1.65 masing-masing 3H, s) dan sistem ABX spin pada δ 2.33 (1H, t, $J = 15.1$ Hz), δ 3.14 (1H, dd, $J = 15.1$ dan 7.1 Hz), δ 3.34 (1H, dd, $J = 15.1$ dan 7.1 Hz), yang merupakan rantai isoprenil.

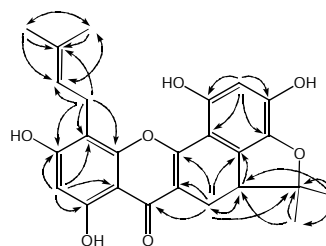
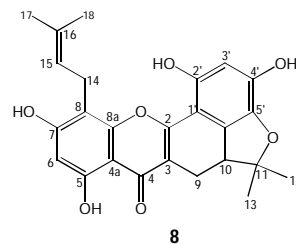
Spektra HMBC juga menunjukkan adanya hubungan antara proton metilen pada δ 2.33 and 3.14 (H-9) dan karbon metin pada δ 48.1 (C-10) dan empat buah karbon kuarteneri pada δ 94.1 (C-11), 133.5 (C-6'), 112.6 (C-3), 162.0 (C-2). Data spektra ¹³C-RMI dari senyawa **8**. Observasi korelasi jarak jauh dilakukan terhadap proton metana pada δ 3.34 (H-10) dengan karbon metil pada δ 22.9 (C-12) dan 28.5 (C-13) dan karbon kuarteneri pada δ 94.1 (C-11), 133.5 (C-6'). Hasil ini memberikan kepastian adanya substitusi isoprenil pada posisi C-3 yang bergabung dengan C-6' dan dengan oksigen pada posisi C-5', yang mirip dengan senyawa yang sudah dikenal, artoindonesianin P (**Hakim**, dkk., 1999).

Spektra NMR-¹H juga menunjukkan adanya sinyal untuk gugus isoprenil (δ 1.65 dan 1.78, masing-masing singlet, (3H, H-18 dan H-17); 5.23, m, (1H, H-15) dan 48.7, m, (2H, H-14). Analisa data korelasi HMBC menunjukkan bahwa gugus isoprenil ini terdapat pada posisi C-8.

Penentuan struktur dari **8** ini diperoleh dari data spektrum RMI-¹H dan ¹³C dibantu juga dengan data HMQC and HMBC yang selanjutnya dipastikan dengan membandingkan data spektra tersebut dengan senyawa yang pernah dilaporkan sebelumnya yaitu artoindonesianin P, artonin J, dan artobilosanton (**Aida**, dkk., 1993; **Hakim**, dkk., 1999; **Syah**, dkk., 2002).

Berdasarkan analisa spektrofotometri masa HR-FABMS menggunakan alat spektrometer JEOL JMS-700T dengan matriks gliserol diketahui bahwa **8** merupakan senyawa dengan rumus molekul C₂₅H₂₅O₇. Dari hasil

analisis spektroskopi tersebut di atas dapat disarankan bahwa senyawa **8** merupakan senyawa baru **artokarpon B (Widyawaruyanti, 2007^a)**, dengan struktur senyawa dan gambaran korelasi jarak jauh ¹H-¹³C (HMBC) sebagai berikut:



Hasil uji antimalaria senyawa hasil isolasi dari ekstrak diklorometana kulit batang *A.champeden*

Hasil uji aktivitas antimalaria *in vitro* terhadap kesembilan senyawa yang diperoleh dari hasil fraksinasi dan isolasi fraksi DE8 dan DE9 ekstrak diklorometana kulit batang *A. Champeden* selanjutnya dianalisis menggunakan analisis probit untuk menentukan nilai IC₅₀ dari masing-masing senyawa yang diujikan. Nilai IC₅₀ dari senyawa hasil isolasi ekstrak di klorometana kulit batang *A.champeden* dapat dilihat pada *Tabel 3* di bawah ini. Senyawa heteroflavanon C memiliki nilai IC₅₀ yang paling rendah (0,001 μ M), sedangkan senyawa artoindonesianin E menunjukkan nilai IC₅₀ yang paling tinggi (75,76 μ M).

Menurut **Fidock, et al.** (2004) suatu senyawa dianggap efektif sebagai antimalaria jika memiliki IC₅₀ < 1–5 μ M. Berdasarkan ketentuan ini, maka senyawa flavonoid hasil isolasi ekstrak diklorometana kulit batang *A. champeden* mempunyai aktivitas antimalaria, kecuali artoindonesianin E (IC₅₀ = 75,76 μ M). Senyawa yang memiliki aktivitas tertinggi adalah heteroflavanon C (IC₅₀ = 0,001 μ M). Dilaporkan bahwa obat antimalaria standar klorokuin memiliki IC₅₀ = 0,006 μ M (**Nuri**, 2006). Dengan demikian aktivitas antimalaria dari heteroflavanon C ini lebih kuat dari klorokuin, sehingga sangat potensial untuk dikembangkan sebagai obat antimalaria pengganti klorokuin yang saat ini sudah tidak efektif lagi. Aktivitas antimalaria dari

Tabel 2. Data spektrum RMI-¹H dan ⁻¹³C senyawa 8

Karbon	δ H (CD ₃ OD)	δ C (CD ₃ OD)
2	-	162.0
3	-	112.6
4	-	181.8
4a	-	105.2
5	-	156.2
6	6.45 (s)	94.1
7	-	162.9
8	-	112.8
8a	-	159.8
9	2.33 (t ; J = 15.1) 3.14 (dd, J = 15.1, 7.1)	20.9
10	3.34 (dd, J = 15.1, 7.1)	48.1
11	-	94.1
12	1.33 (s)	22.9
13	1.65 (s)	28.5
14	3.30 (m)	48.7
15	5.23 (m)	123.7
16	-	131.7
17	1.78 (s)	18.0
18	1.65 (s)	22.3
1'	-	104.9
2'	-	151.8
3'	6.23 (s)	105.5
4'	-	147.5
5'	-	138.1
6'	-	133.5
OMe	-	-

Tabel 3. Nilai IC₅₀ dari senyawa flavonoid hasil isolasi ekstrak diklorometana kulit batang *A. champeden* pada uji antimalaria *in vitro*

Bahan Uji	IC ₅₀ (μ g/ml)	IC ₅₀ (μ M)
Artoindonesianin E (1)	26,2350	75,76
Heteroflavanon C (2)	0,0006	0,001
Artoindonesianin R (3)	0,5246	1,32
Artokarpon A (4)	0,0066	0,12
Heterofillin (5)	0,0156	0,53
Artoindonesianin A-2(6)	0,4999	1,31
Sikloheterofillin (7)	0,083	0,02
Artokarpon B (8)	0,0800	0,18
Artonin A (9)	0,2800	0,55

heteroflavanon C dan senyawa flavonoid kulit batang *A. champeden* yang diperoleh pada penelitian ini baru pertama kali dilaporkan.

Aktivitas antimalaria senyawa artoindonesianin E dan heteroflavanon C sangat jauh berbeda, padahal kedua senyawa ini termasuk ke dalam satu golongan flavanon dengan struktur kimia yang mirip. Diduga bahwa adanya rantai isopren di posisi C-8 pada senyawa heteroflavanon C yang menyebabkan peningkatan aktivitas antimalariannya. Adanya rantai isopren menyebabkan heteroflavanon C menjadi lebih non polar dan lipofilik dibandingkan artoindonesianin E, sehingga heteroflavanon C dapat menembus membran sel parasit lebih baik dan memberikan aktivitas antimalariannya.

Cerqueira et al. (2003), meneliti hambatan proliferasi limfosit dari beberapa senyawa isoprenilflavon dari *Artocarpus elasticus*. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa aktivitas hambatan proliferasi limfosit yang tertinggi dimiliki oleh senyawa isoprenilflavon dengan rantai isopren yang terikat pada C-8. Hasil yang sama terlihat dari uji aktivitas antimalaria terhadap senyawa isoprenil flavonoid yang diperoleh dari *A. champeden* ini. Senyawa yang mengalami substitusi rantai isopren pada atom karbon (C-8) dari kerangka flavonoid menunjukkan aktivitas yang lebih kuat, seperti pada senyawa heteroflavanon C dan sikloheterofillin (IC₅₀ = 0,02 μ M). Hal ini menunjukkan bahwa posisi rantai isopren juga mempengaruhi aktivitas farmakologinya.

Selain artoindonesianin E dan heteroflavanon C, senyawa flavonoid yang diperoleh dari hasil isolasi ekstrak diklorometana kulit batang *A. champeden* ini umumnya memiliki rantai isopren yang terikat pada atom C-3, yang merupakan ciri khas senyawa flavonoid dari suku Moraceae. Hasil uji antimalaria menunjukkan bahwa senyawa-senyawa ini juga memiliki aktivitas antimalaria yang efektif. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa substitusi rantai isopren pada kerangka dasar senyawa flavonoid dapat meningkatkan aktivitas antimalariannya.

Struktur kimia senyawa flavonoid ini tentunya berbeda dengan obat-obat antimalaria yang ada saat ini, misalnya alkaloid, seskuiterpen lakton dan golongan sulfa. Obat-obat dengan struktur kimia yang berbeda, sangat mungkin memiliki mekanisme kerja yang berbeda.

Hal yang menarik terlihat pada senyawa sikloheterofillin (IC₅₀ = 0,02 μ M). Dari hasil penelitian yang dilakukan **Gunawan, dkk.** (2006), diperoleh informasi bahwa senyawa ini mampu menghambat perkembangan stadium parasit malaria *P. falciparum* dari stadium cincin menjadi stadium trofozoit dan menyebabkan stadium skizon tumbuh dengan morfologi yang abnormal. Sikloheterofillin juga mampu menghambat proses degradasi globin di dalam vakuola makanan parasit malaria (**Widyawaruyanti, dkk.,** 2007^b).

Hasil Uji Hambatan Hemolisis eritrosit terinfeksi parasit yang diinduksi sorbitol

Uji hambatan hemolisis eritrosit terinfeksi parasit yang diinduksi oleh sorbitol dari senyawa artoindonesianin R, artokarpon A, artoindonesianin A-2, sikloheterofilin, artokarpon B dan artonin A memberikan hasil seperti tersebut pada *Tabel 4* berikut ini.

Tabel 4. Hasil pengujian hambatan hemolisis eritrosit terinfeksi parasit

Senyawa	Hemolisis (%)	Rata-rata	Log P
Artoindonesianin R	28,78	38,25 ± 13,39	3,11
	47,72		
Artokarpon A	14,62	17,07 ± 3,47	2,85
	19,53		
Artoindonesianin A-2	21,35	20,44 ± 1,29	2,43
	19,53		
Sikloheterofilin	61,95	64,73 ± 3,93	4,77
	67,51		
Artokarpon B	38,78	47,31 ± 12,06	3,33
	55,84		
Artonin A	56,38	55,35 ± 1,46	4,34
	54,32		

Keterangan: (*) Nilai Log P diperoleh dari program Chem-draw ultra 8.0

Menurut **Go, et al.** (2004), suatu senyawa dapat dikatakan sebagai "good inhibitor" terhadap jalur permeasi baru eritrosit terinfeksi parasit, bila tingkat hemolisis senyawa tersebut < 40% dapat menekan dibandingkan dengan kontrol negatif (tanpa pemberian obat). Berdasarkan ketentuan tersebut, maka dapat dinyatakan bahwa pada konsentrasi 50 µg/ml hanya senyawa artoindonesianin R, artokarpon A, dan Artoindonesianin A-2 yang dapat menghambat hemolisis eritrosit terinfeksi parasit, sedangkan sikloheterofilin, artokarpon B, dan Artonin A tidak menghambat

Hasil uji hambatan hemolisis menunjukkan bahwa berdasarkan ketentuan dari **Go, et al.** (2004), dari enam senyawa aktif antimalaria yang diujikan hanya tiga senyawa yang menunjukkan hambatan hemolisis yang cukup bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif, yaitu senyawa artoindonesianin R, artokarpon A dan artoindonesianin A-2.

Salah satu parameter lipofilik yang sering digunakan untuk menentukan hubungan kuantitatif struktur aktivitas suatu senyawa adalah logaritma koefisien partisi (log P). Koefisien partisi adalah tetapan keseimbangan suatu

senyawa dalam pelarut non polar/polar yang secara logaritma berhubungan dengan energi bebas (**Siswandono, dan Sukardjo, 1998**). Dilihat dari nilai log P, maka ketiga senyawa ini dapat dikatakan lebih polar dibandingkan senyawa lainnya (sikloheterofilin, artokarpon B, dan artonin A). Karena bersifat lebih polar, maka senyawa artoindonesianin R, artokarpon A dan artoindonesianin A-2 menjadi hidrofilik dan sulit untuk menembus membran eritrosit menghalangi saluran permeasi baru pada membran eritrosit. Hal ini menyebabkan sorbitol tidak dapat masuk ke dalam eritrosit dan tidak menyebabkan lisis eritrosit.

Aktivitas hambatan transport membran dari artoindonesianin A-2 diperkuat oleh hasil penelitian (**Parenti, et al., 1998**) yang meneliti efek hambatan transport membran dari siklochampedol, senyawa flavonoid terisoprenilasi yang juga diisolasi dari *A. champeden*. Senyawa ini memiliki kerangka struktur mirip dengan artoindonesianin A-2. Dilaporkan bahwa siklochampedol dapat menghambat transportasi asam amino leusin melalui membran usus ulat sutera *Bombyx mori*. Dengan demikian semakin kuat dugaan bahwa senyawa isoprenil flavonoid dari *A. champeden* ini dapat menghambat jalur permeasi baru dari membran eritrosit yang terinfeksi parasit malaria.

Senyawa sikloheterofilin, artokarpon B, dan artonin A, walaupun memiliki aktivitas antimalaria yang efektif, tetapi tidak menghambat hemolisis eritrosit terinfeksi parasit. Senyawa ini mempunyai mekanisme dan target obat yang berbeda dengan senyawa artoindonesianin R, artokarpon A dan artoindonesianin A-2. Di lihat dari nilai log P maka senyawa sikloheterofilin, artokarpon B, dan artonin A merupakan senyawa yang bersifat lebih non polar dibandingkan artoindonesianin R, artokarpon A dan artoindonesianin A-2. Karena itu ke tiga senyawa tersebut bersifat lebih lipofilik. Seperti diketahui, senyawa-senyawa yang bersifat lipofilik lebih mudah menembus membran dan memiliki mekanisme aksi serta target obat di dalam sel. Dari penelitian **Gunawan, dkk.** (2006), diperoleh informasi bahwa pengujian terhadap senyawa sikloheterofilin pada kultur parasit menunjukkan adanya penumpukkan pita globin pada SDS-PAGE. Hal ini menandakan adanya kemungkinan hambatan hidrolisis globin di dalam vakuola parasit oleh senyawa sikloheterofilin. Karena itu sangat menarik untuk dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap mekanisme senyawa ini.

Pengujian hambatan hemolisis pada penelitian ini memberikan hasil yang sejalan dengan penelitian **Go, et al.** (2004). Menurut **Go, et al.** senyawa-senyawa yang dapat menghambat hemolisis eritrosit terinfeksi parasit, pasti

mempunyai aktivitas antimalaria. Sedangkan senyawa yang mempunyai aktivitas antimalaria belum tentu menghambat hemolisis eritrosit terinfeksi parasit.

SIMPULAN DAN SARAN

Kulit batang cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng) sangat potensial dikembangkan sebagai obat malaria. Isolasi terhadap tanaman ini menghasilkan senyawa flavonoid **artoindonesianin E (1)**, **heteroflavanon C (2)**, **artoindonesianin R (3)**, **heterofilin (4) artoindonesianin A-2 (6) dan sikloheterofilin (7) artonin A (9)**, dua senyawa baru **(5) artokarpon A** dan **artokarpon B (8)**. Kesembilan senyawa tersebut memiliki aktivitas antimalaria, kecuali senyawa **artoindonesianin E**. Senyawa **heteroflavanon C** mempunyai potensi yang paling kuat dibanding senyawa lainnya dan baru pertamakali dilaporkan pada *Artocarpus champeden* Spreng. Aktivitas antimalaria dari senyawa tersebut diduga karena adanya substitusi rantai isoprenil pada kerangka dasar senyawa flavonoid dapat meningkatkan aktivitas antimalariannya. Substitusi isoprenil pada posisi karbon C-8 memberikan aktivitas antimalaria yang lebih kuat. Dari penelitian ini dapat disimpulkan juga bahwa senyawa **artoindonesianin R**, **artoindonesianin A-2** dan senyawa baru **artokarpon A** mempunyai mekanisme aksi menghambat jalur permeasi baru (NPP) pada membran eritrosit yang diinduksi oleh parasit. Sedangkan senyawa lainnya memiliki aktivitas antimalaria dengan mekanisme yang berbeda.

Senyawa **heteroflavanon C** dari *A. champeden* ini sangat potensial untuk dikembangkan sebagai obat antimalaria. Mengingat jumlahnya di dalam tanaman sangat kecil, maka perlu dikembangkan metode sintesis dari senyawa ini untuk mendapatkan bahan baku obat. Demikian juga dengan senyawa baru **artokarpon A** dan **B**, dengan sintesis kimia dari senyawa ini diharapkan dapat diperoleh senyawa antimalaria yang lebih poten.

Senyawa flavonoid pada kulit batang cempedak (*A. Champeden*) memiliki aktivitas antimalaria poten dengan mekanisme melalui hambatan jalur permeasi baru serta mekanisme lain yang belum diketahui. Oleh karena itu, senyawa tersebut sangat potensial untuk dikembangkan sebagai obat antimalaria baru baik dalam bentuk sediaan fitofarmaka maupun sediaan sintesisnya.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad SA, 2004. Empat Puluh Tahun Dalam Kimia Organik Bahan Alam Tumbuh-Tumbuhan Tropika

Indonesia: Rekoleksi Dan Prospek. Bull Soc Nat Prod Chem. 4: 35–54.

Agriana RH, 2003. Uji aktivitas antimalaria fraksi kloroform kulit batang cempedak (*Artocarpus champeden*) terhadap *Plasmodium berghei* in-vivo. Skripsi, Fakultas Farmasi Unair, Surabaya.

Aida M, Shinomiya K, Hano Y, Nomura T, 1993. Artonin J, K, and L, three new isoprenylated flavones from the root bark of *Artocarpus heterophyllus* Lamk. Heterocycles. 36: 575–583.

Biagini GA, O'Neill, Nzila PM, Ward SA, 2003. Antimalarial Chemotherapy: young guns or back to the future, Trends in Parasitol. 19(11): 479–487.

Bilia AR, Melilo de Malgalhaes P, Berganzi MC, Vincieri FF, 2006. Simultaneous analysis of artemisinin and flavonoids of several extract of *Artemisia annua* L. obtained from a Commercial sample and Selected Cultivar. J Phytomed. 13(7): 487–493.

Boonlaksiri C, Oonant W, Kongsaree P, Kittakoo P, Tanticharoen M, Thebtaranonth Y, 2000. An antimalarial stilbene from *Artocarpus integer*. J Phytochem. 54: 415–417.

Burke E, Deasy J, Hasson R, McCormack R, Randhawa V, Walsh P, 2003. Antimalarial Drug From Nature, J Trinity Student Med.

Cerqueira F, Corderio-Da-Silva A, Araujo N, Cidade H, Kijjoa A, Nascimento MSJ, 2003. Inhibition of lymphocyte proliferation by prenylated flavones: Artelastin as a potent inhibitor. Life Sciences. 73: 2321–2334.

Chen M, Theander TG, Christensen SB, Hviid L, Zhai L, Kharazmi A, 1994. Licochalcone A, a new antimalarial agent inhibits in vitro growth of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* and protects mice from *Plasmodium yoelii* infection. Antimicro and Chemother. 38(7): 1470–1475.

DepKes, 2004. Penggunaan Artemisinin untuk Atasi Malaria di daerah yang resisten Klorokuin. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, [http:// www.lipi.go.id](http://www.lipi.go.id).

Dhani NWU, 2003. Aktivitas antimalaria ekstrak metanol kulit batang cempedak (*Artocarpus champeden* SPRENG) terhadap *Plasmodium berghei* in-vivo, Skripsi, Fakultas Farmasi Unair, Surabaya.

Frolich S, Schuberth C, Bienzle U, Siems KJ, 2005. In vitro Antiplasmodial Activity of Prenylated Chalcon Derivates and their Interaction with haemin. J Antimicro Chemother. 55: 883–887.

- Fidock DA, Rosenthal PJ, Croft SL, Brun R, Nwaka S**, 2004. Antimalarial Drug Discovery: Efficacy Models for Compound Screening, Review, *Nature* 3(Juni): 509–520.
- Go ML, Liu M, Wilairat P, Rosenthal PJ, Saliba JS, Kirk K**, 2004. Antiplasmodial Chalchones Inhibit Sorbitol-Induced Hemolysis of Plasmodium falciparum Infected Erythrocytes. *Antimicro Agent Chemother* 48(9): 3241–3245.
- Gunawan A, Nuri, Arwati H, Widyawaruyanti A, Sjafuruddin, Dahlan YP, Zaini NC**, 2006. Hambatan perkembangan stadium Plasmodium falciparum akibat pemberian isolat sikloheterofilin dari kulit batang Artocarpus champeden Spreng, *Maj Ked Trop Indo* 17(3): 73–80.
- Hakim EH**, 1998. Artokarpin dan heteroflavanon-A, dua senyawa flavonoid bioaktif dari Artocarpus champeden, **Laporan Penelitian**, Lembaga Penelitian ITB, Bandung.
- Hakim EH, Achmad SA, Juliawaty LD, Makmur L, Syah YM, Aimi N, Kitajima M., Takayama H., Ghisalberi EH**, 2006. Prenylated flavonoids and related compounds of the Indonesian Artocarpus (Moraceae). *J Nat Med.* 60: 161–184.
- Hakim EH, Fahriyati A, Kau MS, Achmad SA, Makmur L, Ghisalberty EL, Nomura T**, 1999. Artoindonesianins A and B, Two Prenylated Flavones from the Root of Artocarpus Champeden, *J Nat Pro.* 62: 613–615.
- Heyne K**, 1987. **Tumbuhan Berguna Indonesia II**. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya, hlm. 669–670.
- Iwasaki T, Ogata Y**, 1995. **Medicinal Herbs Index in Indonesia**, 2nd ed. Indonesia: PT. Eisai.
- Kanaani J, Ginsburg H**, 1992. Effect of Cinnamic Acid Derivates on In Vitro Growth of Plasmodium falciparum and on the Permeability of the Membrane of Malaria-Infected Erythrocytes. *J Antimicrobiol Agents Chemother.* 36(5): 1102–1108.
- Kirk K**, 2001. Membran transport in the malaria infected erythrocyte. *Physiol. Review.* 81(2): 495–537.
- Kirk K**, 2004. Channels and transporters as drug targets in the Plasmodium-infected erythrocyte. *J Acta Trop* 89: 285–298.
- Kutner SW, Breuer V, Ginsburg H, Cabantchik**, 1987. On the mode of action of phlorizin as an antimalarial agent in in vitro cultures of *Plasmodium falciparum*. *Biochem Pharmacol.* 36(1): 123–129.
- Lu CM, Lin CN**, 1994. Flavonoids and 9-Hydroxytridecyl docosanoate from Artocarpus heterophyllus, *Phytochem.* 35: 781–783.
- Nuri**, 2006. Aktivitas Atimalaria Isolat yang Berasal dari Ekstrak Diklorometana Kulit Batang *Artocarpus champeden* Spreng secara in vitro, Tesis, Program Magister, Program Pascasarjana Unair, Surabaya.
- Parenti P, Pizzigoni A, Hanozet G, Hakim EH, Makmur L, Achmad SA, Giordana B**, 1998. A New Prenylated Flavone from Artocarpus champeden inhibits the K⁺-dependent amino acid transport in Bombyx mori Midgut, *Biochem and byophis research communic.* 244: 445–448.
- Saxena S, Pant N, Jain DC, Bhakuni RS**, 2003. Antimalarial agents from plant sources. *Curr Sci* 84(9): 1314–1329.
- Sherman IW**, 1998. *Malaria, Parasite Biology, Pathogenesis, and Protection*, Washington, D.C: ASM Press.
- Silfen J, Yanai P, Cabantchik ZI**, 1988. Bioflavonoids effects on in vitro cultures of Plasmodium falciparum. Inhibition of permeation pathways induced in the host cell membrane by the intraerythrocytic parasite. *Biochem Pharmacol* 37: 4269–4267.
- Siswandono, Soekarjo B**, 1998. Prinsip-prinsip rancangan obat, Airlangga University Press, Surabaya, hlm.184–192.
- Sjafuruddin D, Siregar JE, Asih PBS**, 2004. Antimalarial Drug resistance in Indonesia: A Molecular Analysis. Symposium of malaria Control in Indonesia, Proceeding. TDC.
- Syah YM, Ahmad SA, Ghisalberty EL, Hakim EH, Makmur L, Mujahidin D**, 2002. Artoindonesianin Q-T, four isoprenylated Flavones from Artocarpus champeden Spreng. (Moraceae). *J Phytochem* 61: 949–953.
- Syah YM, Ahmad SA, Ghisalberty EL, Hakim EH, Makmur L, Mujahidin D**, 2004. Two new cytotoxic isoprenylated Flavones, artoindosianin U ang V from the heartwood of Artocarpus champeden. *J Fitoterapia* 75(2): 134–140.

Widyawaruyanti A, Subehan, Kalauni SK, Awale S, Nindatu M, Zaini NC, Sjafruddin D, Asih PBS, Tezuka Y, Kadota S, 2007^a. New prenylated flavones from *Artocarpus champeden* and their antimalarial activity in vitro, *J Nat Med.* 61: 410–413.

Widyawaruyanti A, Gunawan A, Nindatu M, Sjafruddin D, Dachlan YP, Kadota S, Zaini NC, 2007^b. Cycloheterophyllin, A new antimalarial agent

inhibits in vitro growth of human parasite *Plasmodium falciparum*. Poster presentation, IOCD International Symposium, Surabaya, 9-11 April 2007.

Zaini NC, Dachlan YP, Syafrudin, 2005. Potensi dan Mekanisme Aksi Senyawa Aktif Antimalaria Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng.), Laporan Penelitian HPTP, Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya.