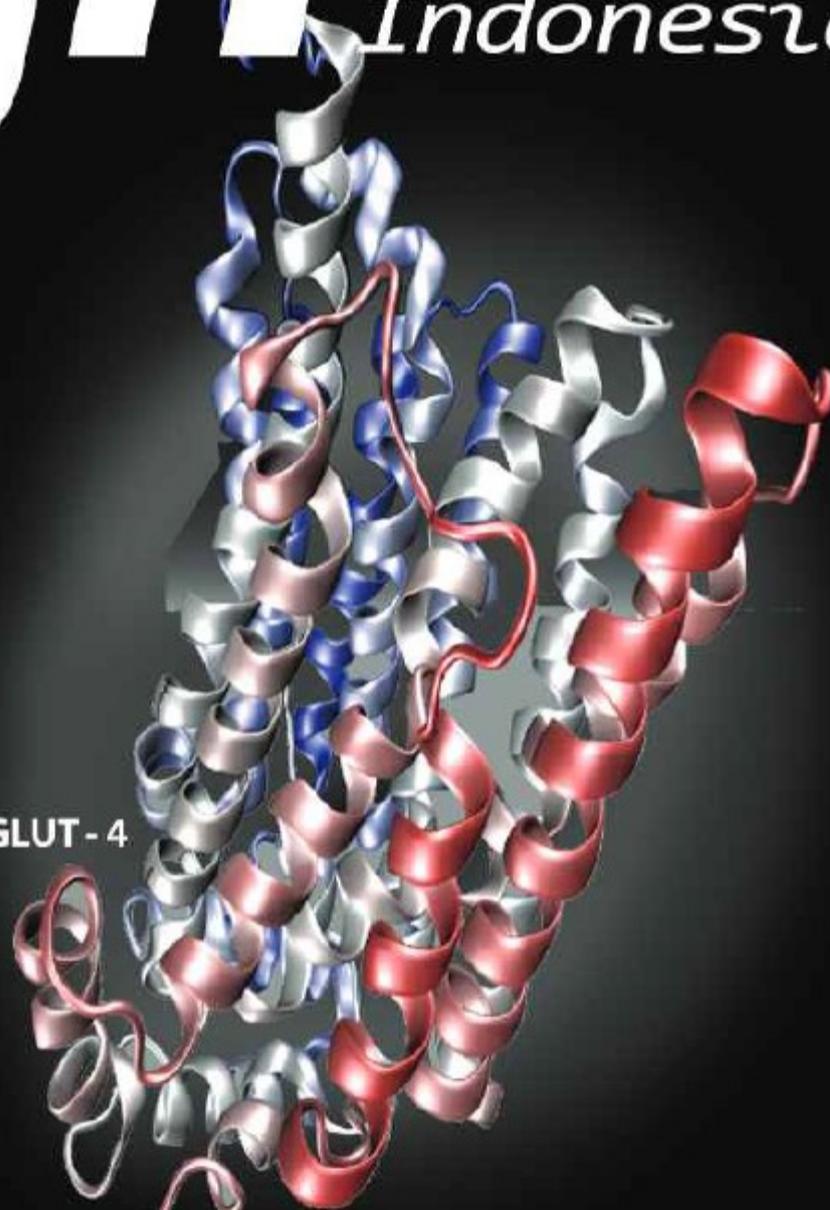


jfi *Jurnal Farmasi Indonesia*

GLUT - 4



VOLUME 6 ❖ NOMOR 2 ❖ JULI 2012

ISSN 1412 - 1107

Pengaruh Vanadil Sulfat Terhadap Ekspresi Protein GLUT-4 pada Mencit yang Menderita <i>Diabetes Mellitus</i> Diana Holidah dan Junaidi Khotib	55 - 63
<i>Antiproliferative Activities of Dianella nemorosa Lam. Leaves Methanol Extract Against HCT-116, C2C12 and 293A Cell lines</i> Aditya Krishar Karim, Widya Asmara, Sismindari, Istriyati, dan Tsutomu Nohno	64 - 70
Uji Efek Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Asam Kandis pada Mencit Putih Betina dengan Metode Penetapan Mikronukleus Fatma Sri Wahyuni, Uci Afrina, dan Almahdy A.	71 - 79
Bioaktivitas Ekstrak <i>n</i>-Heksana dan Alkaloida Kasar Kulit Batang <i>Actinodaphne macrophylla</i> (Blume) Nees var <i>angustifolia</i> Koord. & Valeton Tiah Rachmatiah dan Subaryanti	80 - 85
Aktivitas Senyawa Isolasi Daun Surian terhadap Disfungsi Sel Endotel Hiperkholesterolemia Suhatri, Yanwirasti, Dachriyanus, dan Ellyza	86 - 91
Identifikasi Senyawa Antikanker dari Fraksi Kloroform Kulit Batang <i>Bruguiera gymnorhiza</i> dan Aktivitas Sitotoksiknya Warsinah, Sismindari, dan Ratna Asmah Susidarti	92 - 98
Aktivitas Antibakteri dan Antimitotik dari Fungi yang Bersimbiosis dengan Spons Wilmar Maarisit, Marstella Minelko, dan Tan Tjie Jan	99 - 107
Kajian Biodegradasi Filem Plastik Campuran Polimer Sintetik dengan Biopolimer dalam Larutan Air Melzi Octaviani, Erizal Zaini, dan Akmal Djamaan	108 - 114
Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Aka Lambuang Yohannes Alen, Rustini, dan Resta Honesty	115 - 121
Petunjuk bagi Penulis	
Instructions for Authors	

Bioaktivitas Ekstrak *n*-Heksana dan Alkaloida Kasar Kulit Batang *Actinodaphne macrophylla* (Blume) Nees var *angustifolia* Koord & Valeton

Tiah Rachmatiah dan Subaryanti

ABSTRACT: Bioactivities of *n*-hexane extract and crude alkaloid extract from stem bark of *Actinodaphne macrophylla* (Blume) Nees var *angustifolia* Coordinator. & Valeton (Lauraceae) have been investigated. The plants of Lauraceae family are known to contain active compounds such as alkaloids, lactones, fatty acids, terpenes and essential oils. Phytochemical screening of the bark exhibited that it contains triterpenoids, alkaloids and tannins. *n*-hexane extract was prepared by maceration and the crude alkaloid extract was prepared by maceration in dichloromethane after the powdered bark was previously moistened with 25% NH_4OH . The bioactivity assays involved the test of toxicity against brine shrimp larvae (*Artemia salina* Leach), cytotoxicity against Murine P-388 cells and antimalarial against *Plasmodium falciparum*. The results indicated that *n*-hexane extract was active against shrimps larvae with LC_{50} value of 85.11 ppm, and against *P. falciparum* with IC_{50} values of 1.824 ppm, but inactive against Murine P-388 cells with IC_{50} values of 43.0 ppm, while the crude alkaloid extract was active against shrimp larvae with LC_{50} value of 36.31 ppm, against Murine P-388 cells with IC_{50} value of 5.2 ppm, and against *P. falciparum* with IC_{50} value of 0.1 ppm.

Keywords: Lauraceae, *Actinodaphne*, bioactivity, alkaloids, extract.

ABSTRAK: Telah dilakukan pengujian bioaktivitas ekstrak *n*-heksana dan ekstrak alkaloida kasar dari kulit batang *Actinodaphne macrophylla* (Blume) Nees var *angustifolia* Koord. & Valeton, familia Lauraceae. Tumbuhan dari familia ini dikenal mengandung berbagai senyawa aktif seperti alkaloida, lakton, asam lemak, terpen dan minyak atsiri. Penapisan fitokimia dari serbuk kulit batang tumbuhan ini memperlihatkan adanya kandungan triterpenoid, alkaloida dan tannin. Ekstrak *n*-heksana dibuat dengan cara maserasi, sedangkan ekstrak alkaloida kasar dibuat dengan cara maserasi dalam diklorometana setelah serbuk kulit batang dilembabkan terlebih dahulu dengan NH_4OH 25%. Uji bioaktivitas meliputi uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach, uji sitotoksitas terhadap sel Murine P-388 dan uji antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana bersifat aktif terhadap larva udang dengan nilai LC_{50} 85,11 ppm, dan terhadap *P. falciparum* dengan nilai IC_{50} 1,824 ppm, namun tidak aktif terhadap sel Murine P-388 dengan nilai IC_{50} 43,0 ppm, sementara itu ekstrak alkaloida kasar bersifat aktif terhadap larva udang dengan nilai LC_{50} 36,31 ppm, terhadap sel Murine P-388 m dengan nilai IC_{50} 5,2 ppm, dan terhadap *P. falciparum* dengan nilai IC_{50} 0,1 ppm.

Kata kunci: Lauraceae, *Actinodaphne*, bioaktivitas, alkaloida, ekstrak.

Program Studi Farmasi
FMIPA-ISTN, Jakarta

Korespondensi:
Tiah Rachmatiah
Email : tiahrachmatiah@yahoo.com

PENDAHULUAN

Actinodaphne, merupakan salah satu genus dari Lauraceae, berupa pohon atau semak, yang terdiri dari 60 atau 70 spesies dan tumbuh di daerah Asia tropis dan subtropis yaitu dari Srilangka, India, Indo-Cina, Cina, Jepang, Thailand, seluruh wilayah Malaysia sampai ke timur kepulauan Solomon. Ada enam spesies yang dijumpai di Jawa yaitu *A. procera*, *A. sphaerocarpa*, *A. glomerata*, *A. macrophylla*, *A. glabra* dan *A. angustifolia* (1). Nama daerah dari genus ini adalah huru (Sunda), wuru (Jawa), medang kuning, medang kunyit (Malaysia) dan kyese (Myanmar). Kebanyakan tanaman ini diambil kayunya untuk konstruksi, furnitur, produksi plywood dan perahu, namun ada juga yang digunakan sebagai obat tradisional seperti daun dari *A. molucana* yang dimemarkan telah digunakan sebagai obat luar untuk rasa sakit dan patah tulang (2,3). Di Cina akar dari tanaman *A. lancifolia* (Sieb. Et Zucc) Meissn. var. *sinensis* digunakan untuk mengobati sakit perut, artritis, kelelahan, dan bengkak (4). Telah dilaporkan pula bahwa buah dari *A. sesquipedalis* sangat beracun (1) dan *A. procera* dilaporkan mengandung senyawa laurotetanin yaitu racun yang dapat menyebabkan kejang (5). Penelitian terakhir memperlihatkan bahwa ekstrak alkaloida kulit batang *A. sphaerocarpa* memiliki aktivitas antiplasmodium dengan IC_{50} $2,5 \times 10^{-6}$ ppm (6) dan ekstrak alkaloida dari *A. pruinosa* serta kandungan alkaloidanya yaitu (+)-N-(2-hidroksipropil) lindcarpin mempunyai daya sitotoksik terhadap sel leukemia Murine-P388 dengan IC_{50} 3,9 ppm (7). Beberapa spesies lain yang sudah dilaporkan kandungan kimianya antara lain *A. nitida*, *A. acutivena*, *A. obovata*, *A. sesquipedalis*, *A. lancifolia*, *A. longifolia*, *A. angustifolia*, *A. cupularis*, *A. speciosa*, dan *A. cupularis*. Jenis senyawa yang pernah diisolasi dari spesies tersebut kebanyakan alkaloida disamping senyawa lain seperti lakton, minyak atsiri, asam lemak dan terpen. Penelitian yang dilakukan pada tumbuhan spesies *Actinodaphne* di atas adalah tumbuhan yang bukan diperoleh dari Indonesia, sementara itu di Indonesia ada banyak spesies lain yang

dapat memberikan peluang untuk mendapatkan senyawa-senyawa baru yang berpotensi sebagai obat. Hasil survey di Kebun Raya Bogor menunjukkan ada beberapa spesies *Actinodaphne* diantaranya adalah *Actinodaphne macrophylla*. Pada umumnya spesies yang berbeda serta lingkungan dan tempat tumbuh suatu tanaman akan memberikan variasi pada kandungan kimianya, oleh karena itu tidak menutup kemungkinan adanya senyawa aktif lain dapat diperoleh dari spesies tumbuhan tersebut. *Actinodaphne macrophylla* adalah tumbuhan berupa pohon dengan tinggi sampai 37 m yang terdistribusi dari Semenanjung Malaya, Sumatera, Jawa sampai Kalimantan. Sinonim dari *A. macrophylla* adalah *Actinodaphne maingayi* dan *Litsea macrophylla*. Pohon, daun dan kulit batang *A. macrophylla* yang telah dikeringkan dapat dilihat pada gambar 1.

Tahap awal untuk mempelajari bioaktivitas suatu senyawa adalah uji toksisitas secara *in vitro*. Pengujian secara *in vitro* ini relatif lebih cepat, murah, dan hanya membutuhkan sedikit bahan uji. Suatu prosedur umum untuk skrining toksisitas suatu ekstrak atau senyawa adalah dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) yang menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach (8,9). Selanjutnya dapat dilakukan pengujian sitotoksitas pada sel kanker untuk mengetahui prospeknya sebagai antikanker antara lain dengan menggunakan sel murine leukemia P-388 dan pengujian bioaktivitas bahan uji sebagai antimalaria yang dilakukan pada parasit malaria *Plasmodium falciparum* dengan pembandingan klorokuin dan artemisinin (9).

METODE PENELITIAN

Tempat Penelitian

Pembuatan ekstrak dan penapisan fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi (Fitokimia), Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta. Pengujian toksisitas ekstrak dengan BSLT dilaksanakan di Laboratorium Bahan Alam, P2K LIPI-Serpong, pengujian ak-

tivitas antimalaria ekstrak alkaloida kasar dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Bidang Biomedika, PTKMR, BATAN dan untuk ekstrak *n*-heksana dilakukan di Departemen Farmakognosi dan Fitokimia, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya. Pengujian sitotoksitas ekstrak dengan sel Murine P-388 dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Prodi Kimia ITB, Bandung.

Materi tanaman

Kulit batang dari tumbuhan *Actinodaphne macrophylla* yang diperoleh dari Kebun Raya Bogor, Jawa Barat pada bulan Mei 2011. Spesimen tumbuhan dideterminasi di Kebun Raya Bogor dan disimpan di Laboratorium Fitokimia FMIPA-ISTN. Kulit batang dikeringkan dalam ruang ber AC dan diserbuk dengan menggunakan *blender*.

Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan pada serbuk kulit batang *A. macrophylla*. Senyawa yang diidentifikasi meliputi alkaloida, flavonoida, tanin dan triterpenoid/steroid.

Pembuatan Ekstrak

1. Ekstrak *n*-heksana

Serbuk sebanyak lebih kurang 1 kg dimaserasi dalam *n*-heksana selama 24 jam, lalu disaring, maserasi diulang kembali sebanyak 2 kali. Filtrat

dievaporasi menggunakan penguap putar vakum dengan suhu 40°C.

2. Ekstrak alkaloida kasar

Residu (ampas) sisa ekstraksi dengan *n*-heksana dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, lalu dilembabkan dengan NH_4OH 25% dan didiamkan selama lebih kurang 2 jam, kemudian dimaserasi dengan diklorometana selama 24 jam setelah itu disaring. Maserasi diulang sebanyak dua kali. Filtrat dikumpulkan dan dievaporasi sampai setengahnya, lalu dimasukkan ke dalam corong pisah dan dikocok dengan larutan NH_4Cl jenuh. Setelah itu didiamkan sampai terjadi dua lapisan cairan air dan diklorometana. Lapisan diklorometana diambil dan dikocok kembali dengan larutan NH_4Cl jenuh, lalu diklorometana dipisahkan kembali dan dikocok dengan air sebanyak tiga kali. Lapisan diklorometana diambil dan ditambahkan Na_2SO_4 anhidrat, kemudian disaring. Filtrat diuapkan dengan penguap putar vakum sampai diklorometana habis terdestilasi.

Uji Toksisitas terhadap larva *Artemia salina*.

Ekstrak ditimbang sebanyak 4 mg lalu dilarutkan dalam 10 μL DMSO dan air laut sampai 2000 μL , lalu dibuat larutan seri dengan konsentrasi ekstrak 1000, 500, 100, dan 10 ppm yang masing-masing dibuat triplo. Setiap larutan seri dimasukkan 10 ekor larva udang yang berusia 48 jam, dan didiamkan selama 24 jam di bawah sinar lampu (18 Watt) kemudian dihitung jumlah larva yang



Gambar 1. Tumbuhan, daun dan kulit batang *A. macrophylla*

mati dan yang hidup secara visual menggunakan pipet tetes dengan bantuan penerangan lampu. Perhitungan mortalitas dilakukan dengan cara analisis probit dan nilai LC_{50} ditentukan dengan rumus regresi linear.

Uji Sitotoksitas terhadap sel murine P-388:

Pengujian sitotoksitas dilakukan dengan metode MTT-microculture tetrazolium assay.

Uji Antimalaria:

Pengujian daya antimalaria dimulai dengan propagasi *P. falciparum* pada kultur in vitro dengan parasitemia 1-2% pada cawan petri yang berisi medium RPHS dengan hematokrit 4%. Medium pertumbuhan diganti setiap hari. Sebelum melakukan uji daya hambat pertumbuhan *P. falciparum*, parasit dipersiapkan dengan cara menyediakan serum darah, eritrosit tanpa parasit dan eritrosit terinfeksi *P. falciparum*. Selanjutnya dilakukan variasi pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} pada ekstrak konsentrasi 1 mg/mL. Ekstrak yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam lempeng sumur uji yang telah berisi 2 ml medium lengkap dengan hematokrit 4% dan ditambahkan 160 μ L suspensi sel parasit parasitemia awal sekitar 2%, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Prosedur yang sama juga dilakukan pada klorokuin sebagai kontrol. Pengamatan jumlah parasit dilakukan pada awal inokulasi dan hari ke-2 meliputi angka parasitemia. Pertumbuhan parasit diamati dengan membuat sediaan apus darah tipis. Apusan dibiarkan mengering kemudian difiksasi dengan metanol. Apusan diwarnai dengan 5% larutan Giemsa dan dibiarkan 20 menit. Preparat diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x. Jumlah parasit yang hidup dihitung dengan cara menghitung jumlah darah yang terinfeksi parasit pada zat uji dan kontrol terhadap 10.000 sel darah merah. Efektifitas dari ekstrak ditunjukkan dari kemampuan ekstrak untuk menghambat pertumbuhan parasit sebesar 50%. Parasit yang digunakan adalah *P. falciparum* 3D7 sensitif terhadap klorokuin dengan IC_{50} 10^{-9} x 1

mg/mL diperoleh dari Lembaga Biologi Molekuler Eijkman, Jakarta.

HASIL DAN DISKUSI

Hasil determinasi menyatakan bahwa bahan uji adalah spesies *Actinodaphne macrophylla* (Blume) Nees var *angustifolia* Koord.& Valetton. Penapisan fitokimia memperlihatkan bahwa kulit batang *A. macrophylla* mengandung alkaloida, triterpenoid, dan tanin (tabel 1).

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia serbuk kulit batang *Actinodaphne macrophylla*

Pengujian	Hasil
Alkaloida	+
Flavonoida	-
Tanin	+
Triterpenoid	+

Hasil uji toksisitas ekstrak *n*-heksana dan ekstrak alkaloida kasar terhadap larva udang *Artemia salina* memberikan nilai LC_{50} di bawah 100 ppm (tabel 2), yang menunjukkan kedua ekstrak tersebut sangat aktif dengan nilai LC_{50} < 1000 ppm (8,9). Hasil penelitian sebelumnya pada pengujian toksisitas ekstrak alkaloida dari kulit batang jenis *Actinodaphne* lainnya yaitu *Actinodaphne sphaerocarpa* dan *Actinodaphne pruinosa* juga memperlihatkan LD_{50} 126,65 dan 106,46 ppm (6). Umumnya hasil pengujian toksisitas dengan larva udang ini mempunyai korelasi dengan bioaktivitas lain seperti aktivitas sebagai antikanker. Dengan demikian dapat dikatakan kulit batang dari jenis *Actinodaphne* bersifat toksik dan berpotensi mengandung senyawa aktif sebagai antikanker.

Secara keseluruhan bioaktivitas ekstrak alkaloida lebih tinggi daripada ekstrak *n*-heksana karena dari hasil ketiga pengujian ekstrak alkaloida total memberikan nilai LC_{50} dan IC_{50} yang lebih kecil (tabel 2). Pada uji sitotoksitas ekstrak alkaloida total terhadap sel Murine P-388

Tabel 2. Hasil pengujian bioaktivitas ekstrak dari kulit batang *Actinodaphne macrophylla*

Ekstrak	Hasil pengujian		
	BSLT LC ₅₀ (ppm)	P-388 IC ₅₀ (ppm)	Antimalaria IC ₅₀ (ppm)
<i>n</i> -Heksana	85,11	43,0	1,824
Alkaloida	36,31	5,2	0,1

memberikan nilai IC₅₀ dengan nilai IC₅₀ 5,2 ppm sedangkan untuk ekstrak *n*-heksana adalah 43,0 ppm. Bila dilihat dari ketentuan derajat sitotoksitas suatu zat uji terhadap sel Murine P-388 adalah sangat sitotoksik jika IC₅₀ < 2 µg/mL, aktif jika nilai IC₅₀ 2-4 µg/mL untuk senyawa murni, dan IC₅₀ < 20 µg/mL untuk ekstrak (10), maka ekstrak alkaloida kasar bersifat aktif sedangkan ekstrak *n*-heksana tidak aktif. Sementara itu ekstrak dikatakan aktif sebagai antimalaria jika memberikan nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm (11), maka ekstrak *n*-heksana dan alkaloida kasar dari kulit batang *A. macrophylla* kedua-duanya bersifat aktif sebagai antimalaria dengan nilai IC₅₀ 1,824 dan 0,1 ppm. Aktivitas antimalaria juga diperlihatkan oleh ekstrak alkaloid kulit batang *A. sphaerocarpa* yang telah dilakukan sebelumnya dengan nilai IC₅₀ 2,5 x 10⁻⁶ ppm (6). Hasil penelitian antimalaria lainnya yang pernah dilaporkan sebelumnya mendapatkan bahwa alkaloida aporfin seperti norcorydin dan alkaloida bisbenzilisokuinolin seperti dehatrin dan (+)-costaricin mempunyai aktivitas antiplasmodium (12,13,14). Penelitian lainnya menemukan dua diterpen tipe cassana dan norcassana, dari *Caesalpinia crista* (familia Fabaceae) yang tumbuh di Indonesia, mempunyai aktivitas antimalaria dengan nilai IC₅₀ antara 90 nM sampai 6,5 µM (15). Penelitian sebelumnya tentang sitotoksitas pada ekstrak alkaloida *Actinodaphne pruinosa* terhadap sel Murine P-388 memberikan nilai IC₅₀ 5,1 ppm. Isolasi senyawa dari ekstrak alkaloida kulit batang *A. pruinosa* tersebut, mendapatkan alkaloida aporfin baru, (+)-N-(2-hidroksipropil) lindcarpin, yang bersifat sitotoksik terhadap sel Murine P-388, dengan IC₅₀ 3,9 ppm, disamping itu

dari kulit batang tumbuhan ini juga ditemukan beberapa alkaloida aporfin yang telah dikenal yaitu (+)-boldin, (+)-norboldin, (+)-lindcarpin, dan (+)-metillindcarpin (7). Hasil evaluasi dari aktivitas sitotoksik beberapa alkaloida aporfin lain dari *Stephania pierrei* (familia Menispermaceae) menunjukkan bahwa, (-)-dicentrin, (-)-nordicentrin, dan (-)-fanostenin aktif terhadap sel Murine P-388 dengan nilai ED₅₀ < 1 ppm (16).

Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka aktivitas dari ekstrak alkaloida kasar *A. macrophylla* dalam penelitian ini kemungkinan dari jenis alkaloida aporfin dan bisbenzilisokuinolin. Demikian pula dengan aktivitas yang diperlihatkan oleh ekstrak *n*-heksana kemungkinan disebabkan oleh senyawa-senyawa terpen, karena senyawa-senyawa ini dapat tersari dalam pelarut non polar seperti *n*-heksana. Hal ini didukung dengan hasil penapisan fitokimia yang menunjukkan adanya kandungan alkaloida dan triterpenoid dalam serbuk kulit batang *A. macrophylla*. Bila dilihat dari tempat tumbuh yang berbeda, maka tidak menutup kemungkinan akan ditemukan senyawa-senyawa aktif yang baru. Oleh karena itu penelitian ini perlu dilanjutkan ke tahap isolasi senyawa-senyawa aktif dari ekstrak yang mempunyai bioaktivitas tinggi sehingga diperoleh senyawa yang mempunyai potensi sebagai antikanker dan antimalaria.

KESIMPULAN

Ekstrak *n*-heksana kulit batang *A. macrophylla* bersifat aktif terhadap larva udang dengan nilai LC₅₀ 85,11 ppm dan terhadap *P. falciparum*

dengan nilai IC_{50} 1,824 ppm, namun tidak aktif terhadap sel Murine P-388 dengan nilai IC_{50} 43,0 ppm. Sementara itu ekstrak alkaloida kasar kulit batang *A. macrophylla* bersifat aktif terhadap larva udang dengan nilai LC_{50} 36,31 ppm, terhadap sel Murine P-388 dengan nilai IC_{50} 5,2 ppm, dan terhadap *P. falciparum* dengan nilai IC_{50} 0,1 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Backer CA, Van Den Brink BRC. *Flora of Java (Spermatophytes only)*. NV.P. Noordhoff-Groningen-Netherlands 1963; 1: 124-125.
2. Sosef MSM, Hong LT, Prawirohatmodjo S(editors). *Plant Resources of South-East Asia, Timber trees: Lesser-known timbers*. Prosea, Bogor Indonesia; 1998; 5 (3): 45-47.
3. Kostermann AJGH. Lauraceae. *Reinwardtia* 1957; 4: 234-235.
4. Kim MR, Jung HJ, Min BS, Oh SR, Kim CS, Ahn KS, Kang WS, Lee HK. Constituents from the stems of *Actinodaphne lancifolia*. *Phytochemistry* 2002; 59: 861-865.
5. Burkill IH, Birtwistle W, Foxworthy FW, Scrivenor JB, Watson JG. *A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula*. Governments of The Straits Settlements and Federated Malay States 1935; 1: 42-43.
6. Rachmatiah T. Ekstraksi Alkaloida dari *Actinodaphne sphaerocarpa* (BL) Nees dan *A. pruinosa* Nees serta uji bioaktivitasnya terhadap *Artemia salina*, *Plasmodium falciparum* dan sel Murine P-388, Prosiding II, Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXXVII, Universitas Bengkulu. 2009; 425-429.
7. Rachmatiah T, Mukhtar MR, Nafiah MA, Hanafi M, Kosela S, Morita H, Litaudon M, Awang K, Omar, H and Hadi AHA. (+)-N-(2-Hydroxypropyl)lindcarpine: A new cytotoxic Aporphine Isolated from *Actinodaphne pruinosa* Nees. *Molecules* 2009; 14: 2850-2856.
8. Meyer BN, Ferrighi NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE & McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* 1982; 45: 31-34.
9. Colegate SM, Molyneux RJ. *Bioactive Natural Products, Detection, Isolation, and Structural Determination*. CRC Press Boca Raton-Ann Arbor-London-Tokyo 1993; 15-25: 442-446.
10. Alley MC, Scudiero DA, Monks AM, Hursey ML, Czerwinski MJ, Fine DL, Abbott BJ, Mayo JG, Shoemaker RH. Feasibility of Drug Screening with Panels of Human Tumor Cell Lines Using a Microculture Tetrazolium Assay. *Cancer Research* 1988; 48: 589-601.
11. Köhler I, Jennet-Siems K, Siems K, Hernandez MA, Ibarra RA, Berendsohn WG, Brienzle U, and Eckart E. In vitro Antiplasmodial Investigation of Medicinal Plants from El Savador. *Z. Naturforsch* 2002; 57: 277-281.
12. Kitagawa I, Minagawa K, Zhang R, Hori K, Doi M, Inoue M, Ishida T, Kimura M, Uji T, and Shibuya H. Dehatrine an Antimalarial Bisbenzylisoquinoline alkaloid from the Indonesian Medicinal Plant *Beilschidia Madang*, Isolated as a Mixture of Rotational Isomers. *Chem. Pharm. Bull* 1993; 41(5): 997-999.
13. Wright CW, Marshall SJ, Russell PT, Anderson MM, Phillipson JD, Kirby GC, Warhurst DC, Schiff Jr PL. In Vitro Antiplasmodial, Antiamoebic, and Cytotoxic Activities of Some Monomeric Isoquinoline Alkaloids. *J. Nat. Prod* 2000; 63 (12): 1638-1640.
14. Bohlke M, Guinaudeau H, Angerhofer CK, Wongpanich V, Soejarto DD, Farnsworth NR, Mora GA, Poveda LJ. Costaricine, a New Antiplasmodial Bisbenzylisoquinoline Alkaloids from *Nectandra salicifolia* Trunk Bark. *J. Nat. Prod* 1996; 59 (6): 576-579.
15. Linn TZ, Awale S, Tezuka Y, Banskota AH, Kalauni SK, Attamimi F, Ueda J, Asih PBS, Syafruddin D, Tanaka K, Kadota S. Cassane- and Norcassane-Type Diterpenes from *Caesalpinia crista* of Indonesia and their Antimalarial Activity against the Growth of *Plasmodium falciparum*. *J. Nat. Prod* 2005; 68 (5): 706-710.
16. Likhitwitayawuid K, Angerhofer CK, Chai H, Pezzuro JM, Cordell GA, Ruangrunsi N. Cytotoxic and Antimalarial Alkaloids from the Tubers of *Stephania pierrei*. *J. Nat. Prod* 1993; 56 (9): 1468-1478.