

SAAT PARASIT MEMBASMI PARASIT: UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK BENALU SEBAGAI TERAPI MALARIA BARU

Danang Setia Budi¹⁾, Anak Agung Ngurah Nata Baskara²⁾, Pramana Pananja Putra³⁾, Zulfa Faiqoh⁴⁾, Eti Nurwening Solikhah⁵⁾

¹*Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada
email: danangsetiabudi@gmail.com*

²*Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada
email: natabaskara_aangurah@yahoo.com*

³*Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada
email: njputra@yahoo.com*

⁴*Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada
email: zulfaiqoh@gmail.com*

⁵*Bagian Farmakologi dan Terapi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada
email: etinurwening@yahoo.com*

Abstract

Nowadays, the antimalarial drug used showed resistances. Scientists look for new drugs by research especially using herbal plants. The mistletoe (Dendrophthoe pentandra) is previously known having antimalarial activity. This study was conducted to determine in vitro antiplasmodial activity, mechanism of heme polymerase inhibition, and cytotoxicity of water and ethanol extracts of Dendrophthoe pentandra against Vero cells. The results showed that water and ethanol extract of Dendrophthoe pentandra has in vitro antiplasmodial activity, inhibition of polymerase heme, and cytotoxic effect on Vero cells with IC₅₀ values. It can be concluded that Dendrophthoe pentandra has potency as an antiplasmodial.

Keywords : Dendrophthoe pentandra, antiplasmodium, heme polymerase, cytotoxic, Vero cell

1. PENDAHULUAN

Malaria merupakan penyakit yang sampai saat ini masih menjadi masalah kesehatan dunia. Selama 100 tahun, dunia belum dapat memberikan kontribusi yang jelas terhadap pengobatan penyakit ini (Riley, 2000). European Commission (2002) mengatakan bahwa penyakit tersebut tidak hanya menyerang daerah tropis tetapi juga menyerang daerah subtropis di seluruh dunia. Hal tersebut didukung pernyataan Phair dan Sommers (1994) yang mengatakan bahwa kematian banyak terjadi pada negara-negara yang menjadi daerah endemik malaria,

termasuk Indonesia, India, Meksiko, Haiti, Amerika Tengah, dan negara-negara Afrika.

Data WHO menunjukkan bahwa setiap tahun sekitar 300 juta orang di dunia mempunyai resiko yang sama untuk terjangkit penyakit malaria, dengan tingkat kematian dapat mencapai angka 1-1,5 juta orang (Yuliandini, 2000). Sedangkan, Lawrence (2000) menyatakan sebanyak 3 juta orang diketahui meninggal dunia tiap tahun selama satu dekade ini disebabkan oleh malaria.

Kematian akibat malaria banyak disebabkan oleh lingkungan yang sesuai untuk penyebaran parasit dan sudah resistennya *Plasmodium falciparum* terhadap

obat antimalaria yang sering digunakan, seperti klorokuin (CQ) (Najera, 1996). Laporan pertama tentang resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin ialah pada awal tahun 1960 di Amerika Selatan dan Asia Tenggara. Menurut D'Alessandro dan Buttiens (2001) kejadian tersebut terulang kembali di Afrika pada akhir tahun 1970. Sedangkan, kasus resistensi *P. falciparum* terhadap CQ di Indonesia seperti yang dilaporkan Arbani (1991) sudah menyebar sampai 27 provinsi di Indonesia.

Kayser *et al.*, (2000) mengatakan banyak senyawa alam dari tumbuhan dapat dijadikan antimalaria alternatif pengganti obat malaria yang resisten. Menurut Dzulkarnain (1998) tanaman obat di Indonesia dapat dijadikan sebagai antimalaria, yang bersifat antiplasmodium dan meningkatkan daya tahan tubuh. Adanya pemberian tanaman obat tersebut terbukti dapat memperpanjang umur mencit terserang malaria dan mencegah kerusakan hati (hepatoprotektif) & limpa.

Benalu (*Dendrophthoe pentandra*) adalah tumbuhan parasitik yang memiliki potensi sebagai tanaman obat (*herba medicina*). Bagian dari tumbuhan benalu yang berkhasiat sebagai herba medicina adalah bagian daun benalu (Djoko, 1997) seperti benalu teh dan benalu mangga.

Penggunaan ekstrak benalu sebagai antimalaria akan membantu mengurangi kejadian resistensi obat antimalarial yang semakin banyak di seluruh dunia. Namun, data mengenai efektifitas benalu yang ditunjukkan dengan aktivitas dan mekanisme antiplasmodium, serta efek sitotoksiknya kepada tubuh sebagai antimalaria masih sangat kurang. Oleh karena itu, dibutuhkan penelitian mengenai aktivitas antiplasmodium terhadap *P. falciparum*, penghambatan polimerase heme, dan efek sitotoksik terhadap Sel Vero secara *in vitro*.

Kandungan flavonoid pada tanaman *Dendrophthoe pentandra* diduga memiliki aktivitas antiplasmodium, namun publikasi ilmiah yang menunjukkan penelitian untuk membuktikan aktivitas antiplasmodium ini

belum pernah dilakukan. Karena itu pokok permasalahan yang dirumuskan dalam penelitian ini adalah untuk menjawab pertanyaan tentang apakah ekstrak *Dendrophthoe pentandra* memiliki aktivitas antiplasmodium pada *P. falciparum* FCR-3, apakah ekstrak *Dendrophthoe pentandra* memiliki aktivitas penghambatan polimerase heme, serta apakah ekstrak *Dendrophthoe pentandra* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel Vero.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui: 1) aktivitas antiplasmodium ekstrak air dan etanol *Dendrophthoe pentandra* pada *P. falciparum* FCR-3, 2) mekanisme aktivitas antiplasmodium ekstrak air dan etanol *Dendrophthoe pentandra* melalui penghambatan polimerase heme, 3) efek sitotoksik ekstrak air dan etanol *Dendrophthoe pentandra* terhadap sel Vero.

Dari penelitian ini akan dihasilkan luaran berupa informasi tentang seberapa besar aktivitas antiplasmodium ekstrak air dan etanol *Dendrophthoe pentandra* terhadap *P. falciparum* FCR-3, informasi mengenai mekanisme aktivitas antiplasmodium ekstrak air dan etanol *Dendrophthoe pentandra* melalui penghambatan polimerase heme, dan informasi tentang tingkat toksisitas ekstrak air dan etanol *Dendrophthoe pentandra* terhadap sel Vero.

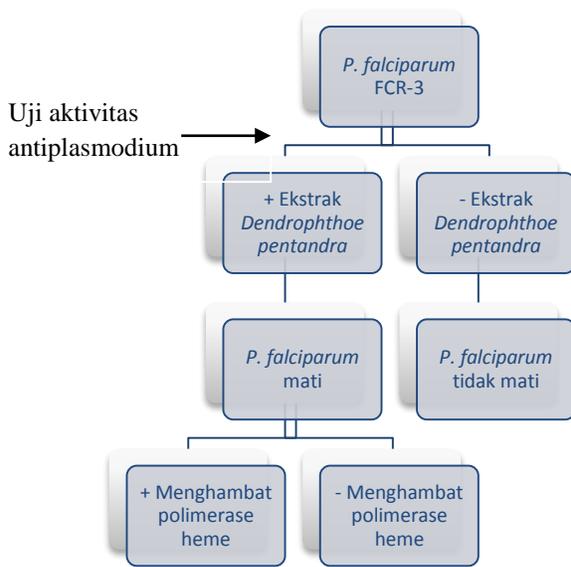
Informasi ilmiah yang diperoleh berguna untuk mengkaji lebih lanjut pemanfaatan *Dendrophthoe pentandra* sebagai terapi baru antimalaria. Di sisi lain, hasil penelitian ini juga dapat menjadi bahan pertimbangan bagi masyarakat untuk menggunakan *Dendrophthoe pentandra* sebagai salah satu alternatif terapi pengobatan malaria.

2. METODE

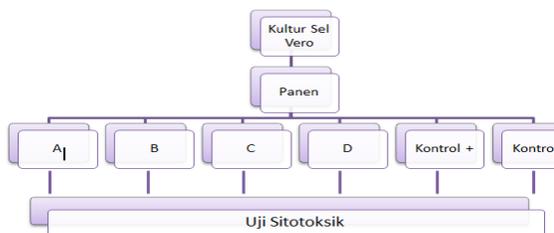
a. Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah eksperimental kuasi dengan rancangan percobaan *posttest only with non equivalent control group design*.

b. Rancangan Penelitian



Gambar 1. Rancangan Uji Antiplasmodium dan Penghambatan Polimerase Heme.



Gambar 2. Rancangan Uji Sitotoksik Sel Vero.

c. Ruang Lingkup

Penelitian ini menggunakan biakan *P. falciparum* strain FCR-3 dan sel Vero yang didapat dari Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Parasitologi FK UGM.

d. Bahan Penelitian

1) Bahan uji

Bahan uji dalam penelitian ini adalah ekstrak *Dendrophthoe pentandra* dalam pelarut etanol dan air yang diekstraksi secara maserasi bertingkat.

2) *P. falciparum* dan sel Vero

Penelitian ini menggunakan biakan *P. falciparum* strain FCR-3 dan sel Vero yang didapat dari Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Parasitologi FK UGM.

3) Medium kultur *P. falciparum*

Medium kultur *P. falciparum* terdiri dari darah manusia golongan O,

MCM (*malaria culture medium*) yang terdiri dari RPMI 1640, larutan HEPES, gentamisin, NaHCO_3 , dan aquades steril

4) Bahan uji aktivitas *P. falciparum*

Bahan uji aktivitas *P. falciparum* terdiri dari DMSO (*Dimethyl sulfoxide*), Giemsa, aquades, NaCl, asam hidroklorid, sorbitol, dekstrosa, & metanol.

5) Bahan uji penghambatan polimerase heme

Bahan uji ini terdiri dari Hematin, NaOH 0,1M, NaOH 0,2M, asam asetat glasial 100%, DMSO (*Dimethyl sulfoxide*), dan akuades.

6) Bahan uji sitotoksik

Bahan uji sitotoksik terdiri dari FBS (*Foetal Bovine Serum*), *fungizone*, Penicillin, Streptomisin, M_{199} , akuades, *Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide* (MTT), SDS (*Sodium Duodecyl Sulphate*), dan HCl 0,01M

e. Instrumen Penelitian

Dalam pelaksanaan penelitian ini untuk pembuatan ekstrak air dan etanol *Dendrophthoe pentandra* digunakan Bekerglas, Neraca analitik (Sartorius), Blender penyerbuk, Penyaring, Rotatory evaporator. Instrumen untuk kultur sel adalah *Microplate*, *Tissue culture flask* (TCF) 75 cm^2 , Inkubator CO_2 5%, *Laminary air flow cabinet*, *Water bath*, Pipet Eppendorf, Tabung 15 mL, Tabung 50 mL, *Yellow tip*, *Blue tip*. Sementara itu untuk Uji antiplasmodium in vitro digunakan *Microplate* 96 sumuran, *Cover slip*, Tabung 15 mL, *Yellow tip*, *Blue tip*, Mikropipet, Inkubator CO_2 5%, *Laminary air flow cabinet*, Gelas obyek, Mikroskop cahaya, Kamera digital, sedangkan Uji penghambatan polimerase heme menggunakan perangkat *Microplate* 96 sumuran, Inkubator CO_2 5%, *Laminary air flow cabinet*, Hemositometer, Mikroskop cahaya, Tabung 15 mL, *Yellow tip*, *Blue tip*, ELISA *plate reader*. Terakhir untuk Uji sitotoksik Sel Vero digunakan instrumen *Microplate* 96 sumuran, Inkubator CO_2 5%, *Laminary air flow cabinet*, Hemositometer, Mikroskop cahaya, Tabung 15 mL, *Yellow tip*, *Blue tip*, ELISA *plate reader*.

- f. Waktu dan Tempat Pelaksanaan
 Penelitian ini dilaksanakan antara Februari 2013–Juli 2013. Pembuatan larutan uji dilakukan dan pelaksanaan penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi FK UGM dan Laboratorium Parasitologi.
- g. Teknik Pengumpulan Data
 Pengumpulan data dilakukan berdasarkan hasil uji setelah perlakuan.
- h. Teknik Pengolahan Data dan Analisis Data

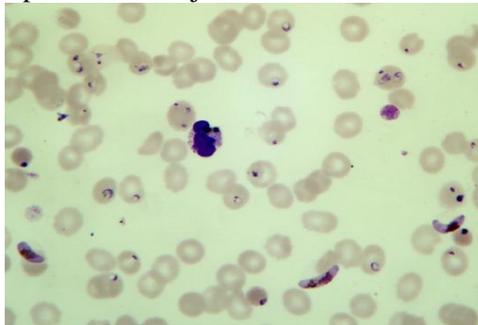
Subyek dikelompokkan sesuai dengan dosis ekstrak benalu (*Dendrophthoe pentandra*) yang diberikan. Dosis efektif yang mampu menghambat pertumbuhan parasit, menghambat polimerase heme, dan menunjukkan viabilitas sel Vero hingga 50% (IC_{50}) dihitung berdasarkan hubungan antara dosis dan persentase hambatan pertumbuhan parasit oleh senyawa uji dengan analisis probit.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

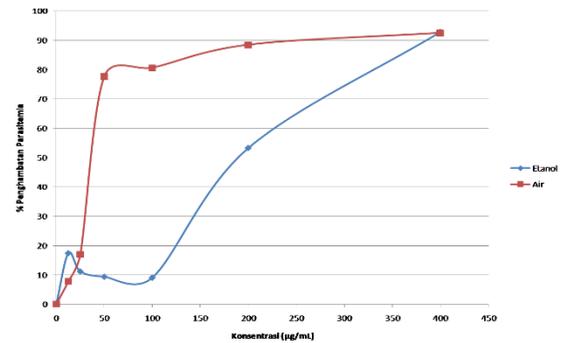
Hasil

a. Uji Aktivitas Antiplasmodium

Pada uji aktivitas antiplasmodium menggunakan pewarnaan Giemsa, jumlah eritrosit yang terinfeksi parasit dihitung untuk mendapatkan persentase penghambatan parasitemia. Hasil pewarnaan disajikan dalam Gambar 3 dan hasil perhitungan persentase penghambatan parasitemia setelah perlakuan disajikan dalam Gambar 4.



Gambar 3. Hasil apusan darah tipis setelah pewarnaan Giemsa



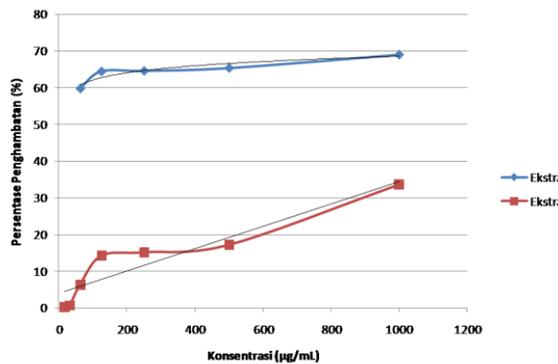
Gambar 4. Grafik persentase penghambatan parasitemia setelah perlakuan

Kemampuan aktivitas antiplasmodium ekstrak air dan etanol *Dendrophthoe pentandra* terhadap *P. falciparum* FCR-3 diuji secara statistik dengan analisis probit. Dari hasil penghitungan, didapatkan nilai dosis IC_{50} sebesar $45,4 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak air, $169,7 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol, dan $13,19 \mu\text{g/mL}$ untuk klorokuin. Nilai dosis IC_{50} ini menunjukkan bahwa jumlah dosis yang dibutuhkan untuk menghambat parasitemia dari *P. falciparum* sebanyak 50%.

b. Uji Penghambatan Polimerase Heme

Pada uji penghambatan polimerase heme, sumuran yang berwarna lebih merah menandakan konsentrasi hematin yang tinggi, yang berarti memiliki aktivitas penghambatan polimerase heme rendah karena polimerase heme mengubah FPIX menjadi hemozoin/hematin.

Persentase penghambatan polimerase heme dihitung untuk mendapatkan rerata penghambatan polimerase heme setelah inkubasi ekstrak air & etanol *Dendrophthoe pentandra* selama 24 jam yang ditunjukkan pada Gambar 6.

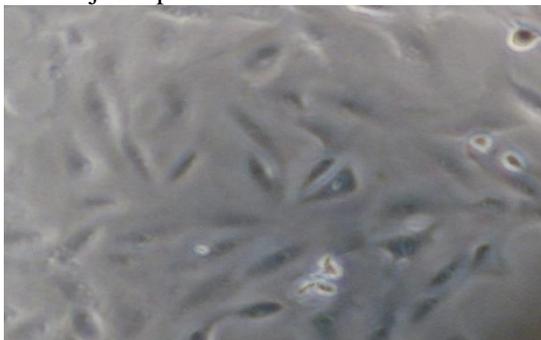


Gambar 6. Grafik rerata persentase penghambatan polimerase heme.

Aktivitas penghambatan polimerase heme ekstrak air dan etanol *Dendrophthoe pentandra* diuji secara statistik dengan analisis probit. Dari hasil penghitungan, didapatkan nilai dosis IC_{50} sebesar $1,6 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak air dan $1969,8 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol, dan $0,6 \mu\text{g/mL}$ untuk klorokuin. Nilai dosis IC_{50} ini menunjukkan bahwa jumlah dosis yang dibutuhkan untuk menghambat polimerase heme sebanyak 50%.

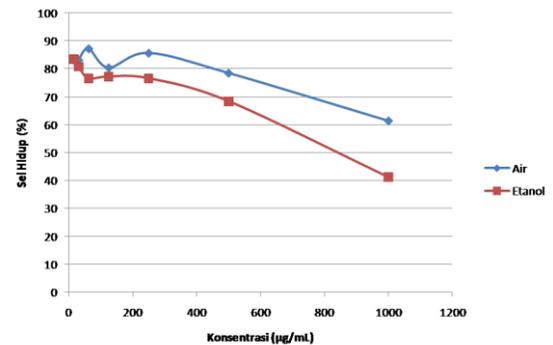
c. Uji Sitotoksik

Dari uji sitotoksik menggunakan pewarnaan MTT, didapatkan nilai absorbansi yang kemudian digunakan sebagai acuan untuk menentukan persentase kehidupan sel. Hasil pengamatan sel dengan mikroskop disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Hasil pengamatan sel Vero dengan mikroskop.

Hasil selengkapnya disajikan dalam Gambar 8 berikut:



Gambar 8. Grafik persentase kehidupan sel Vero setelah perlakuan.

Aktivitas sitotoksik ekstrak air dan etanol *Dendrophthoe pentandra* diuji secara statistik dengan analisis probit. Dari hasil penghitungan ini, didapatkan nilai dosis IC_{50} sebesar $1484,5 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak air dan $845,6 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol, dan $180,05 \mu\text{g/mL}$ untuk klorokuin. Nilai dosis IC_{50} menunjukkan jumlah dosis yang berefek mematikan sel Vero sebanyak 50%.

Pembahasan

Berdasarkan uji aktivitas antiplasmodium, didapatkan nilai dosis IC_{50} *Dendrophthoe pentandra* adalah $45,4 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak air dan $169,7 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol. Suatu ekstrak dianggap berpotensi untuk dikembangkan sebagai terapi antimalaria jika memiliki IC_{50} kurang dari $50 \mu\text{g/mL}$ (Syarif *et al.*, 2010). Dari hasil uji antiplasmodium dapat dilihat bahwa ekstrak air memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi antimalaria karena memiliki IC_{50} $45,4 \mu\text{g/mL}$ ($< 50 \mu\text{g/mL}$). Sementara itu, tingginya nilai IC_{50} pada ekstrak etanol *Dendrophthoe pentandra* dapat disebabkan oleh penggunaan pelarut etanol yang diduga tidak sepenuhnya melarutkan kandungan zat aktif yang ada pada tanaman *Dendrophthoe pentandra*. Berbeda dengan klorokuin yang merupakan zat murni, ekstrak mengandung berbagai zat aktif nonspesifik sehingga membutuhkan dosis lebih besar untuk menimbulkan efek yang sama.

Suatu senyawa dapat memiliki aktivitas antiplasmodium dengan beberapa mekanisme yang berbeda, yaitu melalui penghambatan polimerase heme, inhibisi jalur folat, serta mengubah sintesis DNA. Semua proses ini merupakan efek toksik yang pada akhirnya menimbulkan kematian pada plasmodium. Pada penelitian ini, ekstrak air dan etanol *Dendrophthoe pentandra* diharapkan memiliki aktivitas antiplasmodium, sehingga didapatkan kematian plasmodium melalui mekanisme penghambatan polimerase heme dan rendah efek samping bagi tubuh, ditandai dengan sitotoksitasnya terhadap sel Vero yang rendah. Berdasarkan hal ini, maka nilai IC_{50} ekstrak air dan etanol *Dendrophthoe pentandra* yang rendah ($<50 \mu\text{g/mL}$) menunjukkan bahwa *Dendrophthoe pentandra* berpotensi untuk dikembangkan sebagai terapi antimalaria. *Dendrophthoe pentandra* kemungkinan menimbulkan efek toksik dengan menghambat polimerase heme, dibuktikan dengan hasil IC_{50} uji penghambatan polimerase heme yaitu $1,6 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak air dan $1969,8 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol. Ekstrak air memiliki IC_{50} yang mendekati kontrol positif (klorokuin) menandakan aktivitas penghambatan polimerase heme yang baik. Sementara ekstrak etanol memiliki IC_{50} yang berbeda cukup besar dari ekstrak air dan kontrol positif kemungkinan menandakan zat aktif yang menghambat polimerase heme pada *Dendrophthoe pentandra* lebih larut air dibandingkan etanol. Selain itu, dapat juga disebabkan karena aktivitas antiplasmodium ekstrak etanol tidak terjadi melalui penghambatan polimerase heme, melainkan melalui jalur yang lain yaitu menghambat sintesis asam folat.

Sementara itu didapatkan hasil uji sitotoksitas terhadap sel Vero dengan IC_{50} sebesar $1484,5 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak air dan $845,6 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol. Menurut Haryadi (2011), sebuah zat dikatakan memiliki sitotoksitas yang tinggi terhadap sel Vero dan berbahaya untuk tubuh jika

memiliki $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan kriteria tersebut disimpulkan bahwa kedua ekstrak *Dendrophthoe pentandra* memiliki efek sitotoksik yang rendah terhadap sel Vero sehingga aman bagi tubuh. Hal ini menandakan bahwa ekstrak air dan etanol *Dendrophthoe pentandra* mempunyai aktivitas antiplasmodium terhadap *P. falciparum* FCR-3 yang terjadi melalui penghambatan polimerase heme dengan sitotoksitas terhadap sel Vero yang rendah.

Indeks selektivitas adalah kemampuan suatu senyawa membunuh plasmodium secara selektif dibandingkan dengan sel Vero. Dari hasil di atas didapatkan indeks selektivitas 32,69 untuk ekstrak air, 4,98 untuk ekstrak etanol, dan 13,65 untuk klorokuin. Dari hasil indeks selektivitas ini, dapat ditunjukkan bahwa ekstrak air lebih selektif membunuh plasmodium daripada sel Vero yang dianalogkan sebagai sel tubuh normal dibandingkan dengan klorokuin dan ekstrak etanol.

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa *Dendrophthoe pentandra* memiliki aktivitas antiplasmodium yang baik terhadap *P. falciparum* FCR-3 dengan nilai IC_{50} sebesar $45,4 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak air dan $169,7 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol. Aktivitas antiplasmodium terjadi melalui penghambatan polimerase heme dibuktikan dengan IC_{50} sebesar $1,6 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak air dan $1969,8 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol. Sementara itu efek sitotoksitas *Dendrophthoe pentandra* terhadap sel Vero tergolong rendah dengan IC_{50} sebesar $1484,5 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak air dan $845,6 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol. Secara keseluruhan, ekstrak air lebih selektif membunuh plasmodium daripada sel Vero, dibandingkan klorokuin & ekstrak etanol, ditunjukkan dengan indeks selektivitas 32,69 untuk ekstrak air, 13,65 untuk klorokuin, & 4,98 untuk ekstrak etanol.

Jenis senyawa dalam *Dendrophthoe pentandra* yang berperan aktif sebagai antimalaria belum diketahui secara

pasti. Karena itu, perlu dilakukan isolasi senyawa aktif spesifik yang terkandung dalam *Dendrophthoe pentandra* untuk mengetahui efek masing-masing senyawa tersebut.

5. REFERENSI

- Collins WE. 2012. Plasmodium knowlesi: a malaria parasite of monkeys and humans. *Ann Rev Entomol* 57: 107–121.
- D'Alessandro U, Buttiens H. 2001. History and importance of antimalarial drug resistance. *Trop Med Int Health* 6 (11):845-848.
- Djoko AP. 1997. *Analisis DNA Teraklasi 1,2-Dimetilhidrasin Ekstrak Teh Hijau (Camellia sinensis)*. Laporan Penelitian Dasar Tahun 1996/1997. Jakarta: Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan & Kebudayaan.
- Dondorp AM, Yeung S, White L, Nguon C, Day NP, Socheat D, von Seidlein, L. 2010. Artemisinin resistance: current status and scenarios for containment. *Nat rev Microbiol* 8 (4): 272–280.
- Dzulkarnain B. 1998. *Tanaman-tanaman Antimalaria*. Jakarta: Puslitbang Farmasi, Balitbang Kesehatan, Depkes RI.
- European Commission 2002. *COST B9 Action on Chemotherapy of Protozoal infections (Report)*. Brussel: European Cooperation in The Field of Scientific & Technical Research.
- Kayser O, Kiderlen AF, Croft SL. 2000. Natural Products as Potential Antiparasitic Drugs. www.fuberlin.de/akkayscr/antiparasiticsfromnature.pdf
- Lawrence M. 2000. Enlisting a New Ally in The War Against Malaria. In: Kumar, S. (ed). *Discovery a Publication of the Whitehead Institute for biomedical Research*. Cambridge: Whitehead Institute.
- Mueller I, Zimmerman PA, Reeder JC. 2007. Plasmodium malariae and Plasmodium ovale—the "bashful" malaria parasites. *Trends Parasitol* 23 (6): 278–283.
- Nadjm B, Behrens RH. 2012. Malaria: an update for physicians. *Infect Dis Clin N Am* 26 (2): 243–259.
- Najera JA. 1996. *Malaria Control Among refugees & displaced populations*. WHO: World Health Organization Division of Control of Tropical Diseases Malaria Unit.
- Phair JP, Sommers HM. 1994. *Dasar Biologi dan Penyakit Infeksi* Penerjemah: Wahab, S. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Pitoyo S. 1996. Mistletoe Horticulture, Control and Utilisation. Trubus Agriwidia
- Riley EM. 2000. The London School of Hygiene and Tropical Medicine: a New Century of Malaria Research. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 25-32.
- Syarif RA, Wahyuningsih MSH, Mustofa, Ngatidjan, Kurniawan H, Hilal SRA. 2010. Aktivitas Antiplasmodium In Vitro Estrak Kembang Bulan (*Tithonia Diversifolia* (Hemsley) A. Gray) Terhadap *Plasmodium falciparum*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada
- Windari FI, Rahajoe JS. 1998. Mistletoes diversity in java island. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, 4: 25-29.
- Yuliandini T. 2000. *Malaria, an Age Old Disease Proves Hard to Control*. London: Associated Press.