

## KARAKTERISASI SENYAWA PENGHAMBAT POLIMERISASI HEME DARI BATANG BROTOWALI (*Tinospora crisper* (L.))

(*Characterization of Inhibitor Compounds in Heme Polymerization from Brotowali Stem (Tinospora crisper* (L.))

Lilik Sulastrri<sup>1,2</sup>, Syamsudin<sup>1</sup> dan Partomuan Simanjuntak<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Magister Ilmu Kefarmasian, Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta 12640, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor, Bogor 16151, Indonesia

<sup>3</sup>Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Jl. Raya Bogor KM 46 Cibinong, Bogor 16911, Indonesia

e-mail: liliksulastrri28@gmail.com

Naskah diterima 26 Maret 2018, revisi akhir 17 Juli 2018 dan disetujui untuk diterbitkan 16 Agustus 2018

**ABSTRAK.** Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium falcifarum* dan ditularkan oleh nyamuk *Anopheles betina*. Saat ini, kendala yang dihadapi dalam pengobatan malaria adalah timbulnya resistensi terhadap antimalaria sehingga mendorong penelitian untuk mencari antimalaria baru. Salah satu tanaman obat yang berkhasiat sebagai antimalaria adalah brotowali (*Tinospora crisper* (L.)) dengan kandungan alkaloid, glikosida pikroretosid, pikroretin, berberin, palmatin dan kolumbin. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% dan F.EtOH.4 batang brotowali memiliki aktivitas penghambatan  $\beta$ -hematin tertinggi dengan metode Basilico. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi prediksi struktur senyawa kimia yang berpotensi sebagai antimalaria dari F.EtOH.4 batang brotowali dengan mekanisme penghambatan polimerisasi heme menggunakan metode Huy. F.EtOH.4 difraksinasi menggunakan kolom kromatografi dengan fasa diam silika gel 60 dan eluen diklorometana-metanol. Hasil fraksinasi F.EtOH.4.2, F.EtOH.4.2.1 dan F.EtOH.4.2.1.a masing-masing dilakukan pengujian aktivitas penghambatan polimerisasi heme. F.EtOH.4.2.1.a adalah fraksi yang mempunyai aktivitas penghambatan polimerisasi heme tertinggi dan dilakukan identifikasi struktur kimia dengan Spektroskopi UV, FTIR dan LCMS. Nilai IC<sub>50</sub> dari F.EtOH.4.2.1.a sebesar 253,46 ppm dan IC<sub>50</sub> dari klorokuin sulfat sebesar 178,74 ppm sebagai kontrol positif. Identifikasi isolat F.EtOH.4.2.1.a berdasarkan spektrum MS adalah kemungkinan senyawa borapetoside D dengan rumus molekul C<sub>33</sub>H<sub>46</sub>O<sub>16</sub> dan bobot molekul 698. Hasil spektrum FTIR menunjukkan adanya gugus aromatik dan alkohol dan hasil spektrum UV menunjukkan adanya gugus kromofor.

**Kata kunci:** borapetoside D, malaria, polimerisasi heme, *Tinospora crisper* (L.)

**ABSTRACT.** Currently, obstacle in malaria treatment is the emergence of resistance to antimalarials. Brotowali (*Tinospora crisper* (L.)) is one of the medicinal plant which efficacious as antimalarials. This study aimed to obtain information on the structure prediction of chemical compounds that potential as antimalarials from F.EtOH.4 brotowali stems with heme polymerization inhibition mechanism using Huy method. F.EtOH.4 was fractionated using column chromatography with silica gel 60 as a stationary phase and dichloromethane-methanol eluent. F.EtOH.4.2.1.a has the highest heme polymerization inhibitory activity and chemical structure identification with UV spectroscopy, FTIR and LCMS. The IC<sub>50</sub> value of F.EtOH.4.2.1.a was 253.46 ppm and IC<sub>50</sub> from chloroquine sulfate was 178.74 ppm as a positive control. Identification of F.EtOH.4.2.1.a isolates based on MS spectrum was the possibility of borapetoside D compounds with molecular formula C<sub>33</sub>H<sub>46</sub>O<sub>16</sub> and molecular weight of 698. FTIR

*spectrum results indicated aromatic and alcohol groups and UV spectrum results indicated chromophore groups.*

**Keywords:** borapetoside D, heme polymerization, malaria, *Tinospora crispa* (L.)

## 1. PENDAHULUAN

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium falcifarum* dan ditularkan oleh nyamuk *Anopheles* betina. Secara ilmiah malaria dapat ditularkan oleh adanya interaksi antara agen (*P. falsiparum*), inang defenitif (nyamuk *Anopheles*) dan inang intermediet (manusia) (Syamsudin, 2008). Ada empat (4) spesies *Plasmodium* penyebab malaria yaitu *falcifarum*, *vivax*, *malariae* dan *ovale*. Diantara keempat spesies tersebut, yang paling banyak ditemukan adalah *falcifarum* dan *vivax*. *Falcifarum* merupakan spesies yang paling berbahaya (Hakim, 2011; Muti'ah, 2012).

Kendala yang dihadapi dalam pengobatan malaria untuk saat ini adalah timbulnya resistensi terhadap antimalaria yang tersedia, peningkatan kekebalan tubuh nyamuk *Anopheles* terhadap bahan kimia dan ditemukannya efek samping dari obat tersebut sehingga mendorong penelitian untuk mencari obat antimalaria baru (Muti'ah, 2012; Fitrianiingsih *et al.*, 2010). Salah satu tanaman obat yang berkhasiat sebagai antimalaria adalah brotowali (*Tinospora crispa* (L.)). Tanaman ini banyak mengandung alkaloid, pati, glikosida pikroretosid, pikroretin, berberin, palmatin dan kolumbin. Berdasarkan kandungan tersebut, brotowali banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk antidiabetes, anti inflamasi analgetik dan antimalaria (Ihwan *et al.*, 2014; Ahmad *et al.*, 2016; Dweek & Cavin, 2016; Muharni *et al.*, 2015).

Menurut beberapa penelitian, ekstrak metanol batang brotowali memiliki aktivitas anti *Plasmodium* dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 0,29 mg/mL dan 0,27 mg/mL yang mampu menurunkan derajat parasitemia *Plasmodium falsciparum* galur 3D7 secara *in vitro*, dapat menurunkan jumlah Plasmodium darah mencit dan tanaman brotowali mengandung senyawa aktif tinokrisposid yang berfungsi sebagai

antimalaria (Ihwan, *et al.*, 2014; Suryawati & Herni, 2007; Mahardika, 2015). Ningrum (2016) melaporkan bahwa ekstrak etanol 70% batang brotowali memiliki aktivitas penghambatan  $\beta$ -hematin yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Uji aktivitas penghambatan pembentukan  $\beta$ -hematin dengan metode Basilico (1998) yang dimodifikasi terhadap fraksi etanol, *n*-heksan, etil asetat dan air masing-masing memberikan nilai persen inhibisi 72,40%, 50,86%, 61,88% dan 62,67%. Hasil fraksinasi dari ekstrak etanol menunjukkan fraksi F.EtOH.4 memiliki aktivitas penghambatan  $\beta$ -hematin yang lebih kuat.

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian lanjutan mengenai isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif dari fraksi etanol batang brotowali terhadap penghambatan pembentukan  $\beta$ -hematin. Tujuan penelitian ini untuk memperoleh *informasi prediksi struktur senyawa* kimia yang berpotensi sebagai antimalaria dari fraksi etanol batang brotowali dengan mekanisme penghambatan polimerisasi *heme*.

## 2. METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol batang brotowali (*Tinospora crispa* (L.)), etanol 70%, metanol, diklorometana, silika gel GF60 (70-230 mesh), *sea sand* celite 545, larutan penyemprot KLT (serium sulfat, asam sulfat), plat KLT, klorokuin sulfat (sebagai kontrol positif), hemin klorida, tween 20, buffer asetat dan DMSO. Peralatan yang digunakan berupa spektrofotometer UV-VIS *microplate reader*, peralatan gelas, peralatan *micro* pipet, oven, kromatografi kolom, Spektrofotometer UV-VIS (Simadzu 1240), Spektrofotometer *Fourier-Transform Infra Red* (FTIR Shimadzu IR Prestige 21) dan LCMS (Agilent Xevo G2-XS Qtof).

**Fraaksinasi dan Pemurnian Senyawa Kimia Metabolit Sekunder**

Fraksi ke-4 dari ekstrak etanol batang brotowali (F.EtOH.4) yang mempunyai aktivitas penghambatan tertinggi sebesar 52,79% dilakukan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel 60 (0,063-0,2 mm) dan fase gerak yang digunakan adalah diklorometan dan metanol (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : CH<sub>3</sub>OH) secara gradien dengan perbandingan 10:1; 8:1; 6:1; 4:1 dan 2:1. Skema isolasi F.EtOH.4 batang brotowali dapat dilihat pada Gambar 1.

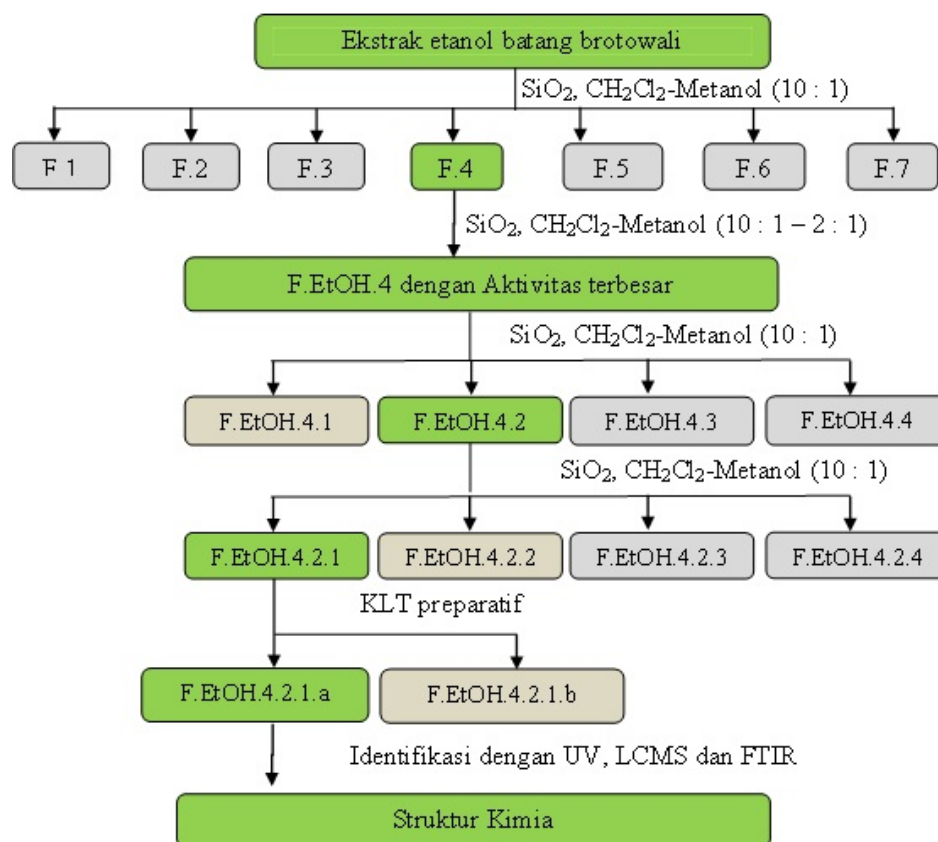
Hasil fraksinasi selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas penghambatan pelimerisasi *heme*. Fraksi etanol 4.2 yang mempunyai aktivitas penghambatan polimerisasi *heme* tertinggi difraaksinasi menggunakan kolom kromatografi SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : Metanol = 10 : 1 menghasilkan subfraksi, disederhanakan, diuji aktivitas kembali dan dilakukan KLT preparatif hingga mendapat isolat murni.

**Pengujian Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Heme**

Pengujian aktivitas penghambatan polimerisasi *heme* oleh F.EtOH.4, F.EtOH.4.2, F.EtOH.4.2.1 dan F.EtOH.4.2.1.a menggunakan hemin klorida dan tween 20 (Huy *et al.*, 2007). Klorokuin sulfat digunakan sebagai kontrol positif. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 250 menit. Serapan sampel diukur pada panjang gelombang serapan 405 dan 620 nm menggunakan *microplate reader*. Perhitungan persentase penghambatan polimerisasi *heme* menggunakan Persamaan 1, yang mana f = fraksi, serapan kontrol = serapan *heme*, serapan sampel = serapan sampel ekstrak dan serapan min = serapan campuran hemin klorida dan tween 20.

$$f = \frac{(\text{serapan kontrol} - \text{serapan sampel})}{(\text{serapan kontrol} - \text{serapan min})}$$

$$\% \text{ penghambatan} = (1 - f) \times 100\% \dots\dots (1)$$



Gambar 1. Skema isolasi F.EtOH.4 batang brotowali

**Karakterisasi Struktur Kimia Analisis Spektrum UV, IR dan LCMS**

Fraksi F.EtOH.4.2.1.a adalah fraksi yang mempunyai aktivitas penghambatan polimerisasi *heme* tertinggi. Identifikasi struktur kimia berdasarkan data spektrum UV, IR dan LCMS (metode positif Ion yang dibandingkan dengan data MS dari literatur).

**3. HASIL DAN PEMBAHASAN  
Fraksinasi dan Pengujian Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Heme**

Pemisahan F.EtOH.4 dilakukan dengan kromatografi kolom (SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : Metanol = 10 : 1 – 2 : 1) menghasilkan

F.EtOH.4.1–4.4. F.EtOH 4.2 memiliki penghambatan polimerisasi *heme* sebesar 65,28% (500 ppm). Selanjutnya dilakukan pemurnian dengan kromatografi kolom (SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Metanol = 10 : 1) dan menghasilkan F.EtOH.4.2.1–4.2.4 dengan penghambatan terbesar F.EtOH.4.2.1 sebesar 66,05% (500 ppm). Kemudian dilakukan KLT preparatif (SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Metanol = 40 : 1) dan hasil KLT prepatif diperoleh 2 (dua) pita yaitu F.EtOH.4.2.1.a dan 4.2.1.b dengan penghambatan terbesar F.EtOH.4.2.1.a sebesar 49,47% (250 ppm). Hasil uji aktivitas penghambatan polimerisasi *heme* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas penghambatan polimerisasi *heme*

| Fraksinasi ke- | Fraksi                             | Konsentrasi (ppm) | Persentase Penghambatan (%) |
|----------------|------------------------------------|-------------------|-----------------------------|
| 1              | Klorokuin sulfat (Kontrol Positif) | 500               | 43,31                       |
|                | F.EtOH.4.1                         | 500               | 47,45                       |
|                | F.EtOH.4.2                         | 500               | 65,28                       |
|                | F.EtOH.4.3                         | 500               | 46,49                       |
|                | F.EtOH.4.4                         | 500               | 60,19                       |
| 2              | Klorokuin sulfat (Kontrol Positif) | 500               | 42,63                       |
|                | F.EtOH.4.2.1                       | 500               | 66,05                       |
|                | F.EtOH.4.2.2                       | 500               | 40,77                       |
|                | F.EtOH.4.2.3                       | 500               | 24,91                       |
|                | F.EtOH.4.2.4                       | 500               | 46,34                       |
| 3              | Klorokuin sulfat (Kontrol Positif) | 250               | 46,60                       |
|                | F.EtOH.4.2.1.a                     | 250               | 49,47                       |
|                | F.EtOH.4.2.1.b                     | 250               | 45,81                       |

Tabel 2. Hasil IC<sub>50</sub> aktivitas penghambatan polimerisasi *heme* oleh senyawa isolat murni F.EtOH.4.2.1.a dan klorokuin sulfat.

| Sampel           | Konsentrasi (ppm) | Persentase Penghambatan (%) | IC <sub>50</sub> (ppm) |
|------------------|-------------------|-----------------------------|------------------------|
| F.EtOH.4.2.1.a   | 50                | 23,52                       | 253,46                 |
|                  | 100               | 25,69                       |                        |
|                  | 150               | 28,66                       |                        |
|                  | 200               | 32,61                       |                        |
|                  | 250               | 43,67                       |                        |
|                  | 300               | 75,29                       |                        |
| Klorokuin Sulfat | 50                | 27,47                       | 178,74                 |
|                  | 100               | 32,60                       |                        |
|                  | 150               | 34,98                       |                        |
|                  | 200               | 57,50                       |                        |
|                  | 250               | 83,59                       |                        |
|                  | 300               | 100,98                      |                        |

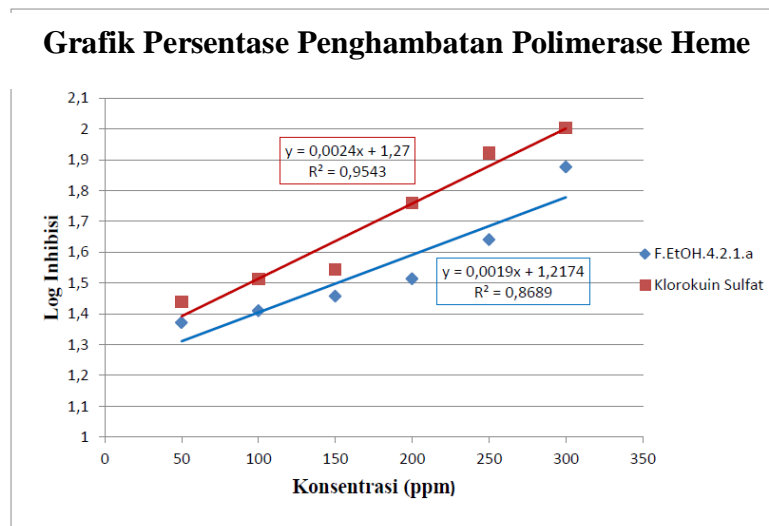
Fraksi F.EtOH.4.2.1.a dilakukan pengujian aktivitas penghambatan polimerisasi *heme* dengan beberapa konsentrasi untuk memperoleh nilai IC<sub>50</sub>. Nilai IC<sub>50</sub> F.EtOH.4.2.1.a sebesar 253,46 ppm dan IC<sub>50</sub> klorokuin sulfat sebesar 178,74 ppm. Hasil IC<sub>50</sub> aktivitas penghambatan polimerisasi *heme* oleh F.EtOH.4.2.1.a dan klorokuin sulfat sebagai kontrol positif ditunjukkan pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Aktivitas penghambatan polimerisasi *heme* fraksi EtOH.4.2.1.a yang ditunjukkan pada Tabel 1 dan Tabel 2 untuk konsentrasi 250 ppm terdapat perbedaan, hal ini disebabkan karena

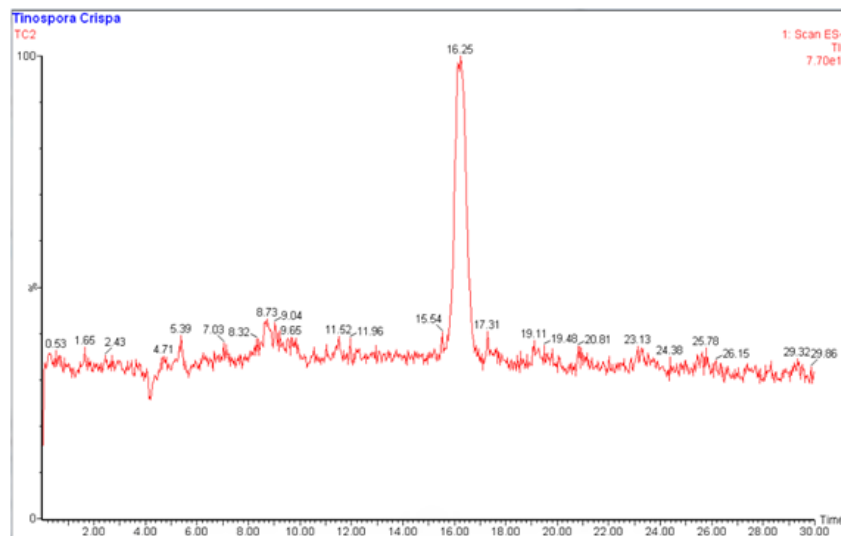
kondisi yang berbeda untuk pH, suhu dan intensitas cahaya yang berakibat pada perbedaan nilai absorbansi.

### Identifikasi Isolat Murni (UV, FTIR dan LCMS)

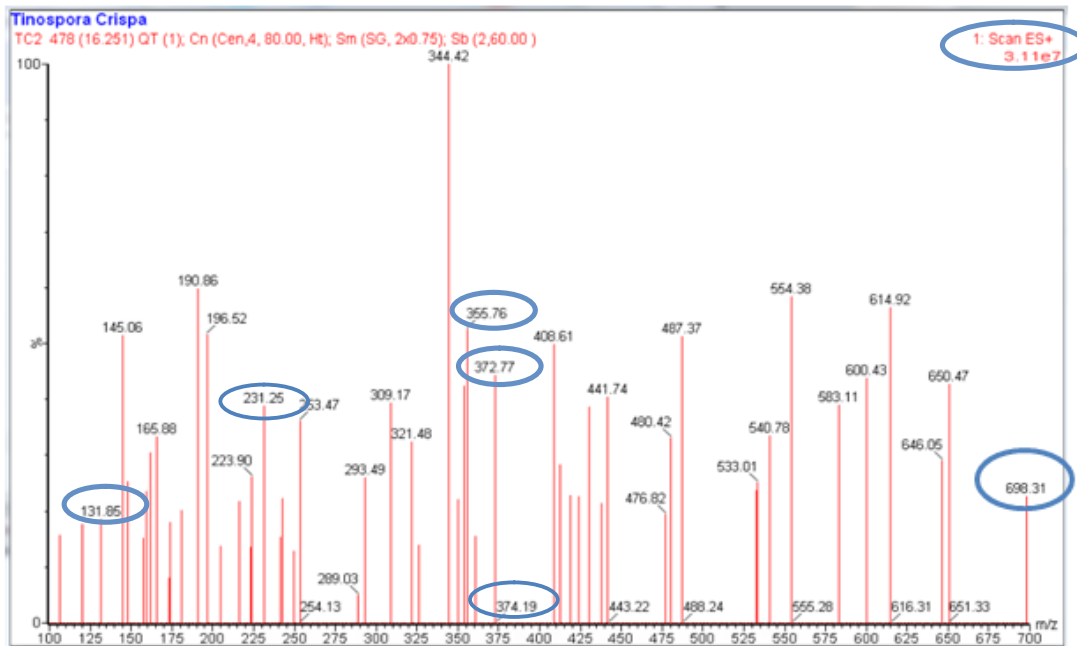
Identifikasi isolat F.EtOH.4.2.1.a dilakukan dengan Spektrofotometer UV, FTIR dan LCMS. Pengujian LCMS dilakukan menggunakan eluen metanol–asetonitril dengan perbandingan 3:7. Pemilihan *metanol dan asetonitril* berdasarkan eluen KLT preparatif dan saat pelarutan, isolat tersebut larut dalam metanol (Gambar 3).



Gambar 2. Grafik persentase penghambatan polimerisasi *heme*



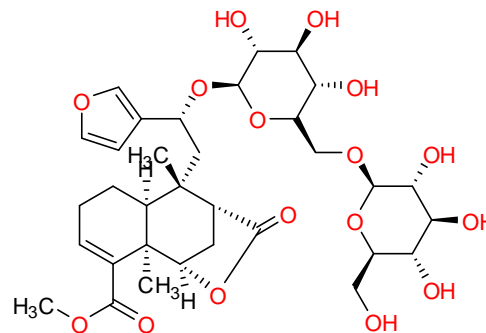
Gambar 3. Kromatogram LCMS dari isolat F.EtOH.4.2.1.a



Gambar 4. Spektrum LCMS menit 16,25 Isolat F.EtOH.4.2.1.a ion positif ES<sup>+</sup>

Spektrum MS pada Gambar 4 menunjukkan bahwa *peak* yang muncul paling kanan merupakan molekuler *peak* yang memiliki bobot molekul  $m/z$  698 (ES<sup>+</sup>). Hasil interpretasi berdasarkan literatur, senyawa yang terkandung dalam sampel dimungkinkan berupa senyawa borapetoside D dengan rumus molekul C<sub>33</sub>H<sub>46</sub>O<sub>16</sub>. Martin (1996) menyatakan bahwa dalam ekstrak metanol batang *Tinospora rumphii* (merupakan nama lain dari *Tinospora crispa* L. mengandung senyawa borapetoside D dengan bobot molekul 697,27 (ES<sup>-</sup>). Perbedaan +/- 1 dari bobot molekul disebabkan karena menggunakan positif ion (MW+1) pada saat melakukan analisis MS. Borapetoside D merupakan senyawa golongan furanoditerpen dengan kandungan asetat dan glukosida (Martin *et al.*, 1996; Fukuda *et al.*, 1985).

*Peak* spektrum MS isolat 4.2.1.a memiliki kesamaan dengan *peak* spektrum MS literatur hasil penelitian Fukuda *et al.* (1985) yaitu pada 374, 231 dan 131 (Fukuda *et al.*, 1985; Praman *et al.*, 2011). Hal ini menunjukkan bahwa struktur senyawa yang terdapat dalam F.EtOH.4.2.1.a kemungkinan adalah borapetoside D (Gambar 5).



Gambar 5. Struktur borapetoside D

Hasil analisis spektrum FTIR untuk isolat F.EtOH.4.2.1.a memberikan adanya beberapa gugus fungsi antara lain gugus karbonil (C=O) 1674,21 cm<sup>-1</sup>, gugus hidroksil (OH) pada 3250,05 cm<sup>-1</sup>, 3373,5 cm<sup>-1</sup> dan 3510,45 cm<sup>-1</sup>. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Fukuda *et al.* (1993) yang menyatakan bahwa borapetosid D merupakan senyawa golongan diterpen glikosida yang memiliki BM = 698 yang diisolasi dari ekstrak methanol batang brotowali dengan serapan IR pada 3620-3200 cm<sup>-1</sup> sebagai OH, 1765-1708 cm<sup>-1</sup> sebagai C=O dan 1635 cm<sup>-1</sup> sebagai C=C serta terdapat serapan pada bilangan gelombang 1507, 1240 dan 837.

Hasil spektrum UV isolat murni 4.2.1.a memiliki panjang gelombang maksimum pada 272 nm dan pada penelitian Fukuda *et al.* (1993), panjang gelombang maksimum borapetoside D = 214 nm. Kedua panjang gelombang tersebut menunjukkan isolat tersebut memiliki gugus kromofor (adanya ikatan rangkap diena terkonjugasi (C=C) (Mistry, 2009). Penelitian ini tidak dilakukan pengukuran putaran optik karena identifikasi sudah cukup dengan membandingkan spektrum UV, FTIR dan MS isolat dengan pembanding senyawa autentik berdasarkan literatur.

#### 4. KESIMPULAN

Isolat murni F.EtOH 4.2.1.a hasil isolasi dari *T. crisper* (L.) memiliki aktivitas penghambatan pembentukan polimerisasi *heme* dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 253,46 ppm, dengan kontrol positif klorokuin sulfat sebesar 178,74 ppm. Nilai IC<sub>50</sub> tersebut menyatakan bahwa isolat F.EtOH 4.2.1.a aktif dalam menghambat polimerisasi *heme*. Hasil identifikasi berdasarkan spektrum UV, FTIR dan LCMS senyawa F.EtOH.4.2.1.a kemungkinan merupakan *Furanoditerpenglikosida* dengan nama borapetoside D. Disarankan di dilakukan indentifikasi lanjut menggunakan NMR proton dan karbon.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kepala dan Staf Laboratorium Kimia Bahan Alam LIPI Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong-Bogor, Yayasan, Senat, Ketua dan Staf STTIF Bogor untuk dukungan selama penelitian.

#### DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, W., Jantan, I., & Bukhari, S.N.A. (2016). *Tinospora crisper* (L). Hook.f. & Thomson: A Review of its ethnobotanical, phytochemical and pharmacological aspects. *Frontiers in Pharmacology*, 7(59), 1-19.

Basilico, N., Pagani, E., Monti, D., Olliaro, P. & Taramelli D. (1998). A-Microtitre-based method for measuring the haem

polymerization inhibitory activity (HPIA) of antimalarial drugs. *J. Antimicrobial Chemoterapy*, 42(1), 55-60.

Dweek, A.C. & Cavin, J.P. (2016). Andawali (*Tinospora crisper*) – a review. Retrieved January 20, 2017 from [http://www.dweekdata.com/published\\_papers/Tinospora\\_crispa.pdf](http://www.dweekdata.com/published_papers/Tinospora_crispa.pdf).

Fitrianiingsih, S.P., Supriyatna, Diantini, A. & Muis, A. (2010). Aktivitas anti *Plasmodium* ekstrak etanol beberapa tanaman obat terhadap mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Dalam: *Prosiding SnaPP Edisi Eksakta* (pp 1-13). Bandung: Unisba, 1-13.

Fukuda, M., Yonemitsu, M., Kimura, T., Hachiyama, S., Miyahara, K. & Kawasaki, T. (1985). New Diterpenoid, Borapetoside A and Borapetol A. *J. Chem. Pharm. Bull.*, 33, 4438-4444.

Hakim, L. (2011). Malaria: Epidemiologi dan diagnosis. *Aspirator*, 2(3), 107-116.

Huy, N.T., Maeda, A., Uyen, D.T., Trang, D.T.X., Sasai, M., Shiono, T., Oida, T., Harada, S. & Kamei, K. (2007). Alcohols induce beta-hematin formation via dissociation of aggregated hem and reduction in interfacial tension of the solution. *Acta Tropica*, 101, 130-138.

Ihwan, Rifa'i, M., & Fitri, L.E. (2014). Antiplasmodial test of *Tinospora crisper* stem extract against *Plasmodium falciparum* 3D7 strain in vitro. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 28(2), 91-96.

Mahardika, M.M. (2015). The potential of brotowali stem extract (*Tinospora crisper*) as alternative antimalarial drug. *J. Majority*, 5(4), 45-49.

Martin, T.S., Ohtani, K., Kasai, R. & Yamasaki, I. (1996). Furanoid diterpene glucosides from *Tinospora rumphii*. *J Phytochemistry*, 42(1), 153-158.

Mistry BD. (2009). A Handbook of spectroscopic data, chemistry (UV, IR, PNMR, CNMR and Mass Spektoscopy) B.K.M. Science College. Jaipur: Oxford Book Company India, hal.: 8, 15 & 21.

Muharni, Elfita & Masyita. (2015). Isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak *n*-heksana batang tumbuhan brotowali. *Molekul*, 10(1), 38-44.

Muti'ah, R. (2012). Penyakit Malaria dan mekanisme kerja obat-obat antimalaria. *Alchemy*, 2(1), 80-9.

- Ningrum, D.K. & Simanjuntak, P. (2016). Isolasi senyawa dan uji aktivitas antimalaria dari batang brotowali (*Tinospora crispa* L.) berdasarkan penghambatan  $\beta$ -hematin. Skripsi S1 tidak terpublikasi. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta.
- Praman, S., Mulvany, M.J., Allenbach, Y., Marston, A., Hostettmann, K., Siriruga, P. & Jansakul, C. (2011). Effects of an n-butanol extract from the stem of *Tinospora crispa* on blood pressure and heart rate in anesthetized rats. *J. Ethnopharmacology*, 133, 675-86.
- Stuart, B.H. (2004). *Infra Red Spectroscopy Fundamentals and Applications*. Sydney: John Willey & Sons Ltd.
- Suryawati, S. & Herni, S. (2007). Efek antimalaria ekstrak brotowali (*Tinospora crispa*) pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. *Jurnal Wijaya Kusuma*, 1(1), 13-22.
- Syamsudin. (2008). Penapisan senyawa antimalaria yang berasal dari tumbuhan. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 6(23), 95-99.