

**ISOLASI SENYAWA ANTIMALARIA DARI JAMUR ENDOFITIK
TUMBUHAN SAMBILOTO (*ANDROGRAPHIS PANICULATA* NEES)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Sains Bidang Studi Kimia



Oleh

ADE OKTASARI

08061003019

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

2010

S
632.407
Adc
1
2010



**ISOLASI SENYAWA ANTIMALARIA DARI JAMUR ENDOFITIK
TUMBUHAN SAMBILOTO (*ANDROGRAPHIS PANICULATA* NEES)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Sains Bidang Studi Kimia



Oleh

ADE OKTASARI

08061003019

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

2010

LEMBAR PENGESAHAN

**ISOLASI SENYAWA ANTIMALARIA DARI JAMUR ENDOFITIK
TUMBUHAN SAMBILOTO (*ANDROGRAPHIS PANICULATA* NEES)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Sains Bidang Studi Kimia

Oleh

ADE OKTASARI

08061003019

Inderalaya, November 2010


Pembimbing I



Dr. Elfita, M.Si

NIP. 196903261994122001

Pembimbing II



Fitriya, M.Si, Apt

NIP. 197212101999032001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kimia



Dr. Fatma, M.S

NIP. 1962071319911022001

Kata Persembahan

ALLAH menjadikan kita untuk bersyukur, satu kata yang lebih luas maknanya dari pada terimakasih. Lalu saya berharap tulisan ini menjadi bagian dari rasa syukur saya pada ALLAH atas nikmat iman dalam ruh, nikmat ilmu dalam akal, dan segala nikmat dalam jasad.

"ALLAH akan meninggikan derajat orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat"

(Q.S. Al Mujadilah : 11)

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

Abak dan Ibu Tercinta, Abang-abangku dan Adik-Adikku yang memperhatikan,

Mendukung, dan mendoakanku.

Bu Elfita dan Bu Fitriya yang telah membimbing dan menyediakan waktunya.

Almamater.

KATA PENGANTAR

Puji syukur Penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala berkah, rahmat, dan kasih sayangNya yang selalu dilimpahkan kepada Penulis sehingga penelitian dan penulisan skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Sholawat dan salam selalu tercurah untuk suri tauladan kita nabi Muhammad Saw yang telah berkorban, mendidik, dan membimbing umat ini sehingga cahaya islam sampai kepada kita.

Skripsi ini merupakan penelitian tentang isolasi senyawa metabolit sekunder dari jamur endofitik suatu tumbuhan yang mempunyai sejarah etnobotani sebagai tumbuhan obat. Pada penelitian ini telah diisolasi senyawa metabolit sekunder berupa kristal jarum berwarna putih sebanyak 7 mg dari jamur endofitik tumbuhan sambiloto. Senyawa metabolit sekunder hasil isolasi ini setelah diuji aktivitas biologinya diketahui bahwa senyawa ini aktif terhadap antimalaria. Melalui uji fitokimia diketahui senyawa hasil isolasi ini adalah golongan alkaloid.

Keberhasilan pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Pada kesempatan ini, Penulis mengucapkan rasa terima kasih yang tulus kepada yang terhormat Ibu Dr. Elfita, M.Si dan Ibu Fitriya, M. Si, Apt selaku tim pembimbing atas pengarahan, waktu, tenaga, dan perhatiannya yang sangat besar kepada Penulis selama penelitian dan penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga Penulis sampaikan kepada Dekan Fakultas FMIPA UNSRI, Ketua Jurusan Kimia FMIPA UNSRI, Bu Nova Yuliasari M.si selaku dosen PA serta dosen-dosen pengajar Kimia FMIPA UNSRI yang telah mengajarkan banyak ilmu kepada Penulis semoga ilmu yang didapat merupakan

ilmu yang berkah sehingga dapat memberikan banyak manfaat untuk kehidupan Penulis, keluarga, dan masyarakat luas. Penulis juga menyampaikan ucapan terimakasih kepada Dr. Aty Widyawaruyanti, MSi.,Apt. staf Departemen Farmakognosi & Fitokimia Fakultas Farmasi UNAIR, yang telah membantu pengukuran uji aktivitas antimalaria serta membantu analisis probiotik senyawa hasil isolasi pada penelitian ini.

Ucapan terima kasih yang terdalem Penulis sampaikan untuk kedua orang tua Penulis yaitu Bapak Zainal Abidin dan Ibu Nurhalimah, kepada bang Dedek, bang Ain, bang Cik, dek Ita dan dek Teddy yang telah banyak berkorban waktu, tenaga, dana, perhatian, serta memberikan semangat kepada Penulis untuk tetap berjuang dalam kehidupan ini. Terima kasih juga untuk Leni, Nike, Veta, dan untuk teman-teman satu lingkaran ilmu yang telah banyak membantu dan memberikan motivasi kepada Penulis selama menjalani proses perkuliahan selama ini. Terima kasih juga kepada teman-teman di Laboratorium Kimia Organik (Fitri, Nana, Fahri, Meliza, Diki, Doan, Mumut), dan semua teman-teman kimia angkatan '06 serta semua pihak yang telah membantu penyelesaian skripsi ini.

Semoga semua bantuan yang telah diberikan mendapat pahala dan rahmat dari Allah SWT, Amin. Akhirnya Penulis berharap semoga tulisan ini bermanfaat bagi kita semua, khususnya untuk kemajuan Ilmu Kimia Organik Bahan Alam.

Indralaya, 21 Oktober 2010

Ade Oktasari

**ISOLATION ANTIMALARIA COMPOUND FROM ENDOPHYTIC
FUNGI OF SAMBILOTO (*ANDROGRAPHIS PANICULATA* NEES)**

By:

ADE OKTASARI

08061003019

ABSTRACT

The endophytic microorganism is a form of bacteria or a fungi microorganism that form colonies interior organs of plants, but does not harm the host plant. The secondary metabolites compound have been isolated from endophytic fungi (*Aspergillus flavus*) living in symbiotic dill for malaria that is sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Isolation begin with cultivation of *Aspergillus flavus* fungi in 2 liter of PDB's media (*Potato Dextrose Broth*) for four weeks. Media is extracted into the solvent ethyl acetate following by evaporation. Ethyl acetate extracts were separated by chromatography techniques in order to get pure compound in the form of white crystal. Phytochemical tests showed that the isolated compound is the alkaloid. Base on of all the spectroscopy correlation data UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HMQC, and HMBC, showed that result of isolation compound is alkaloid piridin's derivate, that is 7-hydroxypiranopiridin-4-on with molecule formula $\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_2$ (Mr= 149). The result of isolation compound showed that activity as anti malarial to *Plasmodium falciparum* 3D7, and assigns value IC_{50} 0,03 $\mu\text{g/L}$ or 0,201 μM .

ISOLASI SENYAWA ANTIMALARIA DARI JAMUR ENDOFITIK

TUMBUHAN SAMBILOTO (*ANDROGRAPHIS PANICULATA* NEES)

Oleh:

ADE OKTASARI

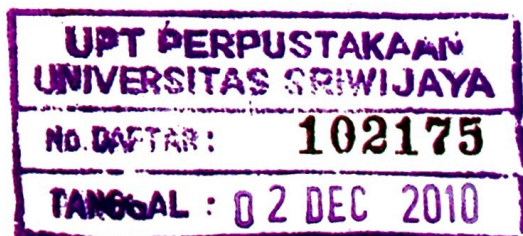
08061003019

ABSTRAK

Mikroba endofitik merupakan suatu mikroorganisme berupa bakteri atau jamur yang membentuk koloni dalam jaringan tanaman, tetapi tidak membahayakan tanaman inangnya. Telah diisolasi senyawa metabolit sekunder dari jamur endofitik (*Aspergillus flavus*) yang hidup bersimbiosis dalam tumbuhan obat untuk penyakit malaria yaitu sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Isolasi diawali dengan kultivasi jamur *Aspergillus flavus* dalam 2 liter media PDB (*Potato Dextrose Broth*) selama empat minggu. Media diekstrak ke dalam pelarut etil asetat dan dilanjutkan dengan evaporasi. Ekstrak etil asetat dipisahkan dengan teknik-teknik kromatografi sehingga didapatkan senyawa murni berupa kristal jarum berwarna putih. Uji fitokimia menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa alkaloid. Berdasarkan semua data spektroskopi UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HMQC, dan HMBC maka senyawa murni hasil isolasi adalah golongan alkaloid turunan piridin yaitu 7-hidroksipiranopiridin-4-on dengan rumus molekul C₈H₇NO₂ (BM= 149). Senyawa hasil isolasi menunjukkan aktivitas antimalaria melalui uji terhadap *Plasmodium falciparum* 3D7, dengan nilai IC₅₀ 0,03 µg/L atau 0,201 µM.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRACT	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Taksonomi Tumbuhan Sambiloto	
(<i>Andrographis paniculata</i> Nees)	5
2.2. Manfaat Sambiloto.....	6
2.3. Kandungan Kimia Sambiloto	7
2.4. Mikroba Endofitik	11
2.5. Antimalaria.....	14
2.5.1. <i>Plasmodium</i>	14
2.5.2. Klorokuin.....	15
2.5.3. Resistensi <i>plasmodium</i>	16
2.6. Senyawa Alkaloid	18
2.6.1. Pengelompokkan Alkaloid	18
2.6.5. Senyawa Alkaloid sebagai Antimalaria	21
2.7. Spektrum NMR 2D	22



BAB III METODOLOGI PENELITIAN	24
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	24
3.2. Alat dan Bahan.....	24
3.2.1. Alat.....	24
3.2.2. Bahan.....	25
3.3. Prosedur Kerja	25
3.3.1. Seleksi Jamur Endofitik.....	25
3.3.2. Kultivasi Jamur Endofitik.....	26
3.3.3. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Jamur Endofitik Terseleksi (Hundley, 2005).....	26
3.3.4. Elusidasi Struktur Molekul.....	27
3.3.5. Uji Aktivitas Antimalaria	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1. Seleksi Isolat Jamur yang Menghasilkan Metabolit Sekunder Potensial.....	30
4.2. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Mikroba Endofitik Terseleksi	33
4.3. Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi	34
4.3.1. Identifikasi dengan Spektrum UV	35
4.3.2. Identifikasi dengan Spektrum IR	35
4.3.3. Identifikasi dengan Spektrum ¹ H NMR	36
4.3.4. Identifikasi dengan Spektrum ¹³ C-NMR.....	38
4.3.5. Identifikasi dengan Spektrum NMR 2D.....	39
4.5. Uji Aktivitas Antimalaria Senyawa Hasil Isolasi	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	45
5.1. Kesimpulan.....	45
5.2. Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1. Data NMR senyawa hasil isolasi dalam metanol- d_4	39
Tabel 4.2. Persen pertumbuhan parasit dan persen penghambatan senyawa 7-hidroksipiranopiridin-4-on terhadap <i>Plasmodium falciparum</i> 3D7.....	43
Tabel 4.3. Nilai IC_{50} dari senyawa hasil isolasi terhadap penghambatan pertumbuhan <i>Plasmodium falciparum</i>	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Foto tumbuhan sambiloto.....	5
Gambar 3.1. Skema pemisahan dan pemurnian senyawa murni dari jamur endofitik tumbuhan sambiloto	29
Gambar 4.1. Foto kultivasi jamur endofitik dari tanamansambiloto ...	30
Gambar 4.2. Foto ekstrak etil asetat jamur dari tanaman sambiloto....	31
Gambar 4.3. Pola noda senyawa metabolit sekunder pada plat KLT yang dihasilkan oleh jamur endofitik dari tanaman sambiloto dengan penampak noda lampu UV 254 nm ...	32
Gambar 4.4. Pola noda senyawa metabolit sekunder pada plat KLT yang dihasilkan oleh jamur endofitik dari tanaman sambiloto dengan penampak noda serium sulfat (C) dan H ₂ SO ₄ 20% (D).....	33
Gambar 4.5. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam MeOH (A) dan MeOH + NaOH (B).....	35
Gambar 4.6. Spektrum IR senyawa hasil isolasi	36
Gambar 4.7. Spektrum ¹ H-NMR yang menunjukkan dua sinyal proton aromatik (CD ₃ OD,500 MHz)	37
Gambar 4.8. Spektrum ¹ H-NMR yang menunjukkan dua sinyal untuk proton metilen (CD ₃ OD,500 MHz)	37
Gambar 4.9. Spektrum ¹³ C-NMR senyawa hasil isolasi (CD ₃ OD, 125 MHz)	38
Gambar 4.10. Spektrum HMBC senyawa hasil isolasi yang menunjukkan korelasi proton aromatik pada δ _H 7,96 ppm (1H; s) (¹ H-500 MHz; ¹³ C-125 MHz, CD ₃ OD)	40
Gambar 4.11. Spektrum HMBC senyawa hasil isolasi yang menunjukkan korelasi proton aromatik pada δ _H 6,50 ppm (1H; s) (¹ H-500 MHz; ¹³ C-125 MHz, CD ₃ OD)	40

- Gambar 4.12. Spektrum HMBC senyawa hasil isolasi yang menunjukkan korelasi proton metilen pada δ_H 4,41 ppm (2H;s) (1H -500 MHz; ^{13}C -125 MHz, CD_3OD)..... 41
- Gambar 4.13. Spektrum HMBC senyawa hasil isolasi yang menunjukkan korelasi proton metilen pada δ_H 2,56 ppm (2H;s) (1H -500 MHz; ^{13}C -125 MHz, CD_3OD)..... 41
- Gambar 4.14. Korelasi HMBC senyawa 7-hidroksipiranopiridin-4-on. 42

DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	Bagan kerja Lengkap	50
Lampiran 2	Skema pemisahan dan pemurnian senyawa murni hasil isolasi	51
Lampiran 3	Gambar kultivasi jamur endofitik dari tanaman sambiloto	52
Lampiran 4	Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa BB ₄ (CD ₃ OD, 500 MHz) ..	53
Lampiran 5	Spektrum HMQC senyawa hasil isolasi (CD ₃ OD, 500 MHz)	54
Lampiran 6	Hasil analisis probit dengan program SPSS 11,5	55

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tumbuhan merupakan sumber senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan dalam bidang pengobatan. Saat ini, banyak obat-obatan yang beredar diantaranya berasal dari bahan aktif yang diisolasi dan dikembangkan dari tumbuhan. Masalah yang terjadi dari penggunaan tumbuhan sebagai bahan aktif obat ini adalah bagaimana menjaga tingkat produksi obat herbal tersebut dengan bahan baku yang terbatas. Dikhawatirkan sumberdaya hayati ini akan musnah disebabkan karena adanya kendala dalam budidayanya (Radji, 2005). Ekplorasi senyawa bioaktif dari tumbuh-tumbuhan umumnya memberikan rendemen yang rendah sehingga menjadi kendala dalam pengembangan senyawa-senyawa tersebut dibidang medis, pertanian, dan industri.

Selama ini beberapa upaya untuk memperbanyak senyawa aktif tersebut diantaranya adalah dengan kultur jaringan, mencari enzim dalam tumbuhan tersebut yang berperan dalam pembentukan senyawa aktif, transplantasi gen ke dalam sel bakteri, dan sintesis laboratorium. Namun, eksplorasi senyawa dengan cara-cara tersebut memiliki peluang keberhasilan yang relatif kecil dan tingkat kesulitan yang tinggi dalam pengerjaannya, serta biaya yang mahal (Radji, 2005).

Selain itu, ada cara lain untuk mendapatkan senyawa bioaktif yaitu dengan memanfaatkan mikroba endofitik yang terdapat spesifik pada setiap tumbuhan. Mikroba ini hidup bersimbiosis saling menguntungkan dengan tumbuhan inangnya dan dapat bersama-sama menghasilkan metabolit sekunder

tertentu yang juga dihasilkan oleh tanaman inangnya (Hung and Annapurna, 2004 dan Hundley, 2005). Dengan mengisolasi mikroba endofitik dari tumbuhan inangnya, maka mikroba ini dapat dikultivasi dalam waktu yang singkat sehingga menghasilkan metabolit sekunder dalam jumlah yang sesuai dengan kebutuhan. Cara ini perlu dikembangkan karena memiliki keunggulan dari segi waktu dan biaya.

Mikroba endofitik adalah organisme hidup yang berukuran mikroskopis yang hidup dalam jaringan tanaman (*xylem* dan *phloem*) dari daun, akar, buah, dan batang. Mikroba ini hidup bersimbiosis saling menguntungkan. Dalam hal ini mikroba endofitik mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman dan memproteksi tanaman melawan herbivora, serangga, atau jaringan yang patogen. Selain itu tanaman mendapatkan derivat nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan selama hidupnya (Hung and Annapurna, 2004 dan Thomas, 2004).

Herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) adalah satu dari tanaman obat yang terdapat hampir di seluruh daerah Indonesia (Kloppenburger, 1988). *Andrographis paniculata* yang juga dikenal sebagai “King of Bitters” adalah sejenis tumbuhan family Acanthaceae yang telah digunakan selama beberapa abad di Asia untuk mengobati beberapa penyakit termasuk malaria (Zein *et al.*, 2008). Daun sambiloto mengandung saponin, flavonoid, alkaloid, tannin, dan turunan fenolat lainnya. Daun dan cabang sambiloto mengandung diterpen lakton yang terdiri dari andrographolida, neoandrographolida, 14-deoksi-11,12 dedihydro-andrographolida, 14-deoksiandrographolida, 14-deoksi-11-hydroandrographolid dan andrographosida (Matsuda *et al.*, 1994). Kandungan lain yaitu, andrographolida, 1 %, kalmegin (zat amorf), dan hablur kuning (yang memiliki

rasa pahit). Di samping itu juga mengandung seskuiterpena lakton yaitu panikulida A dan B (Tang W, Eisenbrand G, 1992) serta logam alkali (Dep. Kes. RI, 1989).

Penelitian di Surabaya menemukan bahwa ekstrak dari herba sambiloto dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* (protozoa malaria) secara *in-vitro* dan mempunyai efektifitas yang sama dengan klorokuin difosfat (Widyawaruyanti *et al*, 2000). Penelitian di Kuala Lumpur, membandingkan efek antimalaria dari sambiloto dengan dua jenis herbal lainnya yaitu daun sirih (*Piper sarmentosum*) dan brotowali (*Tinospora crisoa*) dan mendapatkan efek antimalaria sambiloto lebih besar secara *in-vivo* pada hewan coba (Najib *et al*, 1999). Tumbuhan yang memiliki sejarah etnobotani dan etnofarmakologi sebagai antimalaria seperti sambiloto merupakan salah satu tumbuhan yang menjanjikan untuk ditemukannya senyawa metabolit sekunder antimalaria dari mikroba endofitiknya.

1.2. Rumusan Masalah

Eksplorasi senyawa bioaktif dari tumbuh-tumbuhan umumnya memberikan rendemen yang rendah sehingga menjadi kendala untuk dikembangkan ke penelitian lebih lanjut. Salah satu cara untuk mendapatkan senyawa bioaktifitas tertentu seperti antimalaria dalam jumlah besar adalah dengan mengisolasi senyawa tersebut dari mikroba endofitik yang hidup dalam jaringan tumbuhan (daun dan batang) penghasil senyawa bioaktif seperti sambiloto sebagai obat malaria. Kemudian senyawa ini dapat diperbanyak tanpa harus mengekstrak dari tumbuhan inangnya.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah :

1. Mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari jamur endofitik tumbuhan sambiloto.
2. Menentukan struktur molekul senyawa hasil isolasi.
3. Menentukan aktivitas antimalaria senyawa hasil isolasi tersebut.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini memberikan informasi mengenai kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh jamur endofitik tumbuhan sambiloto yang memiliki aktivitas antimalaria sehingga dapat dikembangkan oleh bidang ilmu terkait (farmasi dan kedokteran) menjadi kandidat obat antimalaria.

DAFTAR PUSTAKA

- Acang, N. 2002. *Kasus Malaria Resisten Klorokuin*. Majalah Kedokteran Indonesia 52 (11) : 383-389.
- Apridinata, D. 2010. *Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Kapang Endofitik penghasil Metabolit Sekunder dari tanaman Sambiloto (Andrographis paniculata Ness) Miers*. Skripsi. Indralaya : Universitas Sriwijaya.
- Arifin, S. 1985. *Kimia Organik Bahan Alam*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Universitas Terbuka.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Malaria. Tes resistensi untuk Plasmodium falciparum*. Jakarta. Direktorat Jenderal Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyengatan Lingkungan Pemukiman, 3-29.
- Elfita dan Muharni. 2008. *Produksi Senyawa Antimalaria dari Mikroba Endofitik pada Tanaman Obat Tradisional untuk Penyakit Malaria*. Laporan Akhir Hibah Strategis Nasional. Indralaya : Universitas Sriwijaya.
- Elfita E., Muharni M., Madyawati L., Darwati D., Ari W., Supriyatna, S., Bahti, H. H., Dachriyanus D., Cos P., Maes L., Foubert K., Apers S., and Pieters L. 2009. *Antiplasmodial and Other Constituents from Four Indonesian Garcinia spp.* Phytochemistry 70: 907-912.
- Ginting Y., Tarigan B., Zein, U., Pandjaitan, B. 2001. *The Comparison Resistance of Chloroquine and Pyrimethamine-Sulfadoxin Uncomplicated Malaria Falciparum in Siabu District, Mandailing Natal Regency Sumatera Utara Province*. Yogyakarta : Kongres Bersama PETRI.
- Gunatilaka, A. A. L. 2006. *Natural Products from Plant-Associated Microorganisms: Distribution, Structural Diversity, Bioactivity, and Implications of Their Occurrence*. J. Nat. Prod. 69 : 509-526.
- Gupta, K.K., Taneja, S.C., Dhar, K.L., 1996. *Flavonoid glycoside of Andrographis paniculata*. Indian Journal of Chemistry 35B, 512-513.
- Gupta, K.K., Taneja, S.C., Dhar, K.L., Atal, C.K., 1983. *Flavonoids of Andrographis paniculata*. Phytochemistry 22, 314-315.
- Hari Kishore, P., Reddy, M.V.B., Reddy, M.K., Gunasekar, D., Caux, C., Bodo, B., 2003. *Flavonoids from Andrographis lineata*. Phytochemistry 63, 457-461.

- Hay, A. E., Helesbeux, J. J., Duval, O., Labaied, M., Grellier, P., and Richomme, P. 2004. *Antimalarial xanthenes from Calophyllum caledonicum and Garcinia vieillardii*. Life Sciences 75 : 3077-3085.
- Hundley, N. J. 2005. *Struktur Elucidation of Bioactive Compounds Isolated from Endophytes of Alstonia Scholaris and Acmena Graveolens*. Thesis. Department of Chemistry and Biochemistry. Brigham Young University.
- Hung, P. Q. and Annapurna, K. 2004. *Isolation and Characterization of Endophytic Bacterial in Soybean (Glycine sp.)*. Omonrice 12: 92-101.
- Ito, J., Ghosh, A., Moreira, L. A., Wimmer, E. A., and Jacobs, L. M. 2002. *Transgenic anopheline mosquitoes impaired in transmission of a malaria parasite*. J. Nature 417: 387-388.
- Jalal, M.A.F., Overton, K.H., Rycroft, D.S., 1979. *Formation of three new flavones by differentiating callus cultures of Andrographis paniculata*. Phytochemistry 18, 149-151.
- Kloppenburg J. 1988. *Petunjuk Lengkap Mengenai Tanam-tanaman di Indonesia dan Khasiatnya Sebagai Obat-obatan Tradisional (Terjemahan)*, CDRS Bethesda dan Andi Offset. Yogyakarta, 149.
- Kuroyanagi, M., Sato, M., Ueno, A., Nishi, K., 1987. *Flavonoids from Andrographis paniculata*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 35, 4429-4435.
- Laihad FJ, Gunawan S. *Malaria di Indonesia*. Dalam: Harijanto P.N. 2000. *Malaria, Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis, dan Penanganan*, Jakarta: Kedokteran EGC.
- Lenny, S.2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida, dan Alkaloida*. Medan : Universitas Sumatera Utara.
- Malhotra S, Sigh AP: Recent Advance in Pharmacology of *Andrographis paniculata*: <http://www.ayurvedanc.com/research/Andrographis.htm>. 26 April 2010.
- Matsuda, T., Kuroyanagi, M., Sugiyama, S., Umehara, K., Ueno, A., Nishi, K., 1994. *Cell differentiation inducing diterpenes from Andrographis paniculata Nees*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 42, 1216-1225.
- Mopuru, V.B.R., Hari Kishore, P., Venkata Rao, C., Gunasekar, D., Caux, C., Bodo, B., 2003. *New 2'-oxygenated flavonoids from Andrographis affinis*. Journal of Natural Products 66, 295-297.

- Munta, K.R., Reddy, M.V.B., Gunasekar, D., Murthy, M.M., Caux, C., Bodo, B., 2003. Aflavone and an unusual 23-carbon terpenoid from *Andrographis paniculata*. *Phytochemistry* 62, 1271–1275.
- Nik Najib NAR, Furuta T, Kojima S, Takane K, Mustafa AM. 1999. *Antimalarial activity of extracts of Malaysian medical plants*. *Journal of Ethnopharmacology*, 64 (3): 249-54.
- Ongkana, R. 2003. *Phytochemistry and Anti-Malarial Activity of Eupatorium Odoratum L.* Mahidol University.
- Prapanza, I. E. P & L. A. Marianto. 2003. *Khasiat dan Manfaat Sambiloto Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit*. Tangerang: PT Agromedia Pustaka.
- Prasetyoputri, A dan Ines, A. 2006. *Mikroba Endofit : Sumber Molekul Acuan Baru yang Berpotensi*. *Bio Trends* Vol 1. No. 2.
- Radji, M. 2005. *Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal*. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol 2. No.3 : 113–126.
- Radlofi PD, Philips J, Nkeyi M, Hutchinson D, Kremsher PG. 1990. *Atavaquone and proguanil for Plasmodium falciparum malaria*. *Lancet*, 347.
- Rao, K. Y., Vimalamma, G., Rao, C. V., Rao, R. Y., & Yew-Min, Tzeng. 2004. *Flavonoids and andrographolides from Andrographis paniculata*. *Phytochemistry*, 65: 2317–2321.
- Stierle, A., Stierle, D., and Strobel, G. 1993. *Taxol and taxane production by Taxomyces andreanae an endophytic fungus of Pacific yew*. *Science*, 214-216.
- Stierle, A., Stierle, D., Strobel, G., Bignami, G., and Grothaus, P. 1995. *Bioactive metabolites of the androphytic fungi of Pacific yew Taxus brevifolia: paclitaxel, taxanes, and other bioactive compounds in "Taxane anticancer agents: Basic science and current status"*. Eds., G.I. George; T.T. Chen; I. Ojima and D.M. Vyas. *ACS Symposium series 583*. Washington, DC, 81-97.
- Strobel, G., and Daisy, B. 2003. *Bioprospecting for Microbial Endophytes an their natural products, Microbiology ang molecular biology review, American society for microbiology*. Departemen of plant science, Montana state university, Bozeman, Montana vol. 67. No. 4. 491-502.
- Sudhanshu, S., Neerja, P, D. C., Bhakuni. 2003. *Antimalaria Agents from Plant Sources*. Medicinal Plant Chemistry Division, Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants. PO-CIMAP. Lucknow 226 015. India.

- Tang W, Eisenbrand G. 1992. *Chinese Drugs of Plant Origin: Chemistry, Pharmacology, and Use in Traditional and Modern Medicine*. Springer-Verlag, Berlin, 97.
- Thomas, P. 2004. *A Three-Step Screening Procedure for Detection of Covert and Endophytic Bacteria in Plant Tissue Cultures*. *Current Science* 87 (1): 67-72.
- Trager, W., and Jensen, S. B. 1976. *Human malaria parasites in continuous culture*, *Science* : 673-675.
- Universitas Mennesota. 2005. *Varian NMR Instructions - 2D*. Jurusan Ilmu Kimia Fasilitas NMR.
- WHO. 1985. *Special programe for research and training in tropical disease research. TDR seventh program report malaria (2)*. WHO Spec. Programe for Trop. Disease :.2-13.
- Widyawaruyanti, A., Subehan, Kalauni, S. K., Awale, S., Nindatu, M., Zaini, N. C., Sjafruddin, D., Asih, P. B. S., Tezuka, Y., Kadota, S. 2007. *New prenylated flavones from Artocarpus champeden and their antimalarial activity in vitro*. *J Nat Med*. 61 : 410-413.
- Widyawaruyanti, A., dan Kusumawati, I. 2000. *Uji Anti Malaria Herba Sambilata Terhadap Plasmodium falciparum Secara In vitro*. Dalam: Penelitian Tanaman Obat di Beberapa Perguruan Tinggi di Indonesia, Departemen Kesehatan RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi. Jakarta.
- Zein, U., Ginting, Y., Saragih, A., Hadisahputra, S., Arrasyid, N. K., Yulfi, H. dan Sulani, F. 2004. *Antimalaria effect of Chloroquin-Sambiloto (Andrographis paniculata Nees) Combination Compared Chloroquin Alone in Adult Patients of Uncomplicated Malaria Falciparum*. e-USU Repository.