

**AKTIVITAS ANTIPLASMODIUM EKSTRAK ETANOL
BEBERAPA TANAMAN OBAT TERHADAP MENCIT
YANG DIINFEKSI *Plasmodium berghei***

Sri Peni Fitriyaningsih*, Supriyatna, Ajeng Diantini**,
Abdul Muis*****

*Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Islam Bandung

**Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Padjadjaran

***Jurusan Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Winaya
Mukti

Abstrak

Telah dilakukan pengujian aktivitas antiplasmodium ekstrak etanol daun johar (*Cassia siamea Lamk.*), biji mahoni (*Swietenia macrophylla King*), daun pepaya (*Carica papaya L.*), daun tapak dara (*Catharanthus roseus (L.)G.Don*), dan akar tapak liman (*Elephantopus scaber L.*) pada mencit putih jantan galur DDY yang diinfeksi dengan *Plasmodium berghei* galur ANKA. Ekstrak diberikan secara oral dengan dosis 200 mg/kgBB selama empat hari berturut-turut dimulai sehari setelah inokulasi parasit. Pemeriksaan parasitemia dilakukan setiap hari (H₀ sampai H₄) dengan cara dibuat sediaan darah tipis yang diwarnai dengan Giemsa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun johar, biji mahoni, daun pepaya, daun tapak dara, dan akar tapak liman memberikan aktivitas antiplasmodium yang berbeda bermakna ($\alpha=0,01$) dibandingkan dengan kontrol. Aktivitas antiplasmodium terbaik diberikan oleh ekstrak etanol daun pepaya dengan prosen inhibisi sebesar 42,45%. Hasil penapisan fitokimia terhadap ekstrak etanol daun pepaya menunjukkan adanya senyawa alkaloid, saponin dan flavonoid.

Kata kunci : antiplasmodium, *Plasmodium berghei*, *Cassia siamea Lamk.*, *Swietenia macrophylla King*, *Carica papaya L.*, *Catharanthus roseus (L.)G.Don*, *Elephantopus scaber L.*

I. Pendahuluan

Plasmodium merupakan suatu parasit yang menjadi penyebab penyakit yang berbahaya, yang sudah diketahui sejak zaman Yunani kuno yaitu malaria. Gejala dari penyakit malaria ini khas dan mudah dikenal, yaitu demam yang naik turun disertai menggigil. Data dari WHO (*World Health Organization*) menunjukkan bahwa setiap tahun terdapat sekitar 300-500 juta kasus dilaporkan, dan sekitar 1,5-2,7 juta orang meninggal akibat penyakit ini. Plasmodium ini ditularkan dari satu orang ke orang lain lewat perantara nyamuk dari jenis *Anopheles* [1].

Obat yang pertama kali digunakan untuk penyakit ini adalah kina. Obat ini digunakan sebagai obat utama malaria sejak tahun 1600 sampai dengan 1800-an (Katzung, 1995). Seiring dengan majunya ilmu pengetahuan dan teknologi, penemuan obat-obat lain sebagai antimalaria pun berkembang pesat. Obat-obat sintetis seperti klorokuin, primakuin, pirimetamin, dan lain-lain kemudian digunakan sebagai obat malaria pengganti kina. Akan tetapi timbul resistensi plasmodium terhadap obat-obat tersebut [2].

Resistensi plasmodium terhadap obat-obat malaria telah banyak dilaporkan, antara lain resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap obat malaria golongan 4-aminokuinolin (klorokuin dan amodiakuin) untuk pertama kali ditemukan pada tahun 1960 di Kolumbia dan Brazil, dan sekarang telah menyebar ke Asia Tenggara. Selain itu telah dilaporkan pula bahwa *P. falciparum* telah resisten terhadap kuinin di Thailand [1].

Penanggulangan kasus resistensi telah banyak dilakukan oleh WHO dengan memprioritaskan target intervensi kemoterapi dan penemuan obat baru. Penelitian tentang tumbuhan obat untuk pengobatan malaria telah banyak dilakukan di seluruh dunia. Di Indonesia, disamping obat-obatan medis, beberapa tanaman juga dikenal bisa membantu penderita malaria melawan penyakitnya. Tanaman tersebut memang belum terbukti mampu mematikan bibit penyakit malaria. Namun, ia sudah terbukti mampu meningkatkan daya tahan tubuh penderitanya.

Penelitian terhadap mencit membuktikan hal itu. Mencit yang tertular malaria oleh parasit jenis *Plasmodium berghei* yang diberi obat tradisional ini bisa bertahan hidup lebih lama ketimbang yang tidak diberi. Agaknya, dengan pemberian obat tradisional itu kerusakan hati dan limpa akibat ulah bibit penyakit malaria bisa dicegah [3].

Pada penelitian yang mengarah pada parasit malaria, maka digunakan *P.berghei*. Plasmodium ini merupakan suatu hemoprotzoa yang menyebabkan penyakit malaria pada rodensia, terutama rodensia kecil. Secara analisis molekuler tampaknya ada persamaan antara malaria roden dengan malaria *P. falciparum*. Maka dalam rangka menunjang penelitian yang mengarah pada *P.falciparum* digunakan *P. berghei* [4].

Uji hayati untuk pengujian aktivitas antiplasmodium dapat dilakukan secara *in vitro* maupun *in vivo*. Uji hayati *in vitro* dilakukan berdasarkan cara dari Trager and Jensen (1976) dan uji hayati *in vivo* dilakukan pada mencit sebagai hewan percobaan.

Pada penelitian ini dilakukan uji hayati secara *in vivo* pada hewan percobaan mencit DDY sebagai model. Mencit diinokulasi secara intraperitoneal (*i.p*) dengan stabilat *P. berghei* galur ANKA. Parasitemia dari mencit yang diinokulasi kemudian diamati setiap hari sampai mencapai 1-5%. Selanjutnya, mencit diobati dengan sediaan uji secara peroral. Pertumbuhan parasit pada setiap mencit diperiksa setiap hari melalui pembuatan apusan darah yang diwarnai dengan Giemsa dan selanjutnya diamati di bawah mikroskop [5].

Secara tradisional sebagian masyarakat Indonesia menggunakan tumbuhan obat diantaranya johar, mahoni, pepaya, tapak dara, dan tapak liman sebagai obat malaria, tetapi secara lengkap belum banyak diteliti [6,7,8]. Masyarakat Indonesia banyak memakai bahan-bahan tradisional tersebut untuk mengobati penyakit malaria berdasarkan khasiatnya menurunkan demam yang merupakan gejala dari penyakit malaria tetapi belum terbukti apakah simplisia-simplisia tersebut mempunyai aktivitas membunuh parasit penyebab penyakit malaria yaitu *Plasmodium sp.*

Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini akan diteliti secara *in vivo* apakah simplisia-simplisia dari tumbuhan obat tersebut (daun johar, biji mahoni daun pepaya, daun tapak dara, dan akar tapak liman) mempunyai aktivitas antiplasmodium terhadap mencit yang telah diinfeksi *P.berghei*.

A. Percobaan

1. Bahan

Daun johar (*Cassia siamea* Lamk.), biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King), daun pepaya (*Carica papaya*L.), daun tapak dara [*Catharanthus roseus*(L.)G.Don], dan akar tapak liman (*Elephantopus scaber* L.), etanol 80%, pulvis gummi arabicum (PGA), aqua destilata, metanol absolut, pewarna Giemsa, minyak imersi, etanol, kloroform, Natrium sitrat.

2. Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan (*Mus musculus*) galur DDY dengan bobot badan 20-30 gram, berusia 6-8 minggu. Hewan uji diperoleh dari PT. Bio farma (Persero) Bandung.

3. *Plasmodium berghei* galur ANKA

Pada penelitian ini *P .berghei* galur ANKA berasal dari persediaan di Lembaga Eijkman, Jakarta. *P. berghei* hidup dan dipelihara pada mencit, sehingga untuk menjaga kelangsungan hidupnya perlu diadakan transfer pada mencit yang lain secara terus-menerus.

4. Alat

Alat yang digunakan adalah alat yang biasa digunakan di laboratorium, diantaranya adalah alat maserasi 1500 mL, *rotaryevaporator*, mortir dan stamper, timbangan analitis sartorius, spuit dan jarum suntik, sonde oral, mikroskop binokuler, kaca objek, *handtally counter*.

5. Prosedur

a. Pembuatan ekstrak

Bahan tumbuhan dikeringkan di udara terbuka pada suhu ruangan, terlindung dari cahaya matahari langsung, kemudian dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk. Simplisia

kering yang telah dihaluskan tersebut ditimbang sebanyak 100 gram, kemudian diekstraksi secara maserasi selama dua puluh empat jam dengan menggunakan etanol redest 80% sebanyak 500 ml. Kemudian ekstrak tersebut ditampung. Maserasi dilakukan sebanyak tiga kali berturut-turut selama tiga kali dua puluh empat jam. Ekstrak tersebut disatukan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 35°C sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang.

b. Pengujian Aktivitas Antiplasmodium

- Persiapan hewan uji

Sebelum percobaan dilakukan, mencit dikondisikan selama kurang lebih lima hari agar terbiasa dengan kondisi laboratorium. Makanan dan minuman diberikan setiap hari.

- Persiapan sediaan untuk pengujian aktivitas antiplasmodium

Ekstrak disuspensikan dalam larutan PGA 5% b/v sehingga diperoleh konsentrasi tertentu yang telah diperhitungkan terhadap dosis. Dosis yang diberikan adalah 200 mg/kg berat badan mencit.

- Inokulasi *P. berghei* pada mencit

Mencit yang digunakan dalam uji antimalaria diinfeksi dengan menggunakan darah mencit donor yang mengandung *P. berghei*. Darah terinfeksi dari mencit donor diambil dari jantung sebanyak 1-1,5 ml menggunakan alat suntik yang mengandung zat antikoagulan, kemudian darah ditampung dalam tabung reaksi yang berisi larutan Na sitrat 3,8%. Darah donor yang didapat lalu diinjeksi secara *i.p* (intraperitoneal) pada mencit normal yang akan diuji aktivitas antiplasmodiumnya sebanyak 0,2 ml [9].

- Tahap pengujian aktivitas antiplasmodium

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental *in vivo* pada hewan coba yang diperlakukan menurut cara dari Peters, yaitu percobaan dilakukan selama empat hari (*four day test*) [10], dengan tahapan kerja sebagai berikut:

1. Tiap-tiap mencit diinjeksi secara intraperitoneal dengan darah mencit donor yang mengandung *P. berghei*.

2. Setelah 24 jam dibuat preparat sediaan darah tipis; dihitung persentase parasitemianya (H_0).
3. Satu kelompok digunakan sebagai kontrol negatif dengan diberi suspensi PGA 5% b/v, dan lima kelompok lagi masing-masing diberi suspensi ekstrak johar, mahoni, pepaya, tapak dara dan tapak liman dengan dosis 200 mg/kgBB, sekali sehari selama empat hari berturut-turut (H_0 sampai H_3).
4. Setiap hari sebelum pemberian suspensi sediaan uji berikutnya, diperiksa dan dihitung dulu persentase parasitemia darah mencit dengan membuat sediaan preparat darah tipis.
5. Penentuan persentase parasitemia dilakukan dengan cara mengamati sediaan apusan darah tipis. Sediaan apusan darah tipis diperiksa persentase parasitemianya di bawah mikroskop binokuler dengan perbesaran kuat (lensa okuler 10x dan lensa obyektif 100x). Untuk setiap sediaan apusan darah tipis, diamati jumlah eritrosit berparasit dan eritrosit normal dalam sepuluh lapangan pandang mikroskop. Pemeriksaan darah dilakukan lima hari berturut-turut (H_0 sampai H_4).

II. Hasil dan Pembahasan

1. Hasil Pengujian Aktivitas Antiplasmodium

Rata-rata persentase parasitemia dari masing-masing kelompok perlakuan ditunjukkan pada tabel 1 dan gambar 1.

Tabel 1. Rata-rata Persentase Parasitemia Masing-masing Kelompok Perlakuan

Perlakuan	H_0	H_1	H_2	H_3	H_4
Kontrol	1,22±0,07	7,44±1,29	17,50±2,59	29,48±1,82	49,59±5,78
Johar	1,21±0,13	5,32±0,98	13,20±2,10	21,63±3,07	34,00±1,42
Mahoni	1,27±0,12	5,25±1,11	11,12±1,05	21,01±1,77	32,37±2,53
Pepaya	1,24±0,10	4,60±1,01	12,00±3,46	22,34±5,18	28,54±7,01
Tapak dara	1,28±0,17	4,86±0,85	14,00±1,08	21,76±2,86	37,27±6,58
Tapak liman	1,23±0,13	4,99±0,57	16,34±5,16	28,09±4,94	39,34±2,90

Keterangan tabel 1 :

H₀ : Hari setelah 24 jam inokulasi parasit sebelum pemberian sediaan uji pertama

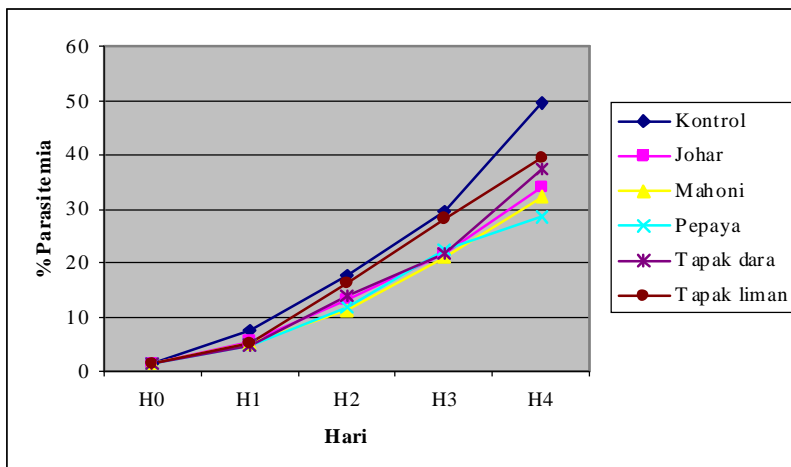
H₁ : Hari setelah 24 jam pemberian sediaan uji pertama (Hari Pertama)

H₂ : Hari setelah 24 jam pemberian sediaan uji kedua (Hari Kedua)

H₃ : Hari setelah 24 jam pemberian sediaan uji ketiga (Hari Ketiga)

H₄ : Hari setelah 24 jam pemberian sediaan uji keempat (Hari Keempat)

Pada tabel 1 dan gambar 1 terlihat bahwa persentase parasitemia setiap kelompok perlakuan dari H₀ sampai H₄ terus meningkat. Tetapi peningkatan persentase parasitemia dari masing-masing kelompok perlakuan pengujian (ekstrak johar, mahoni, pepaya, tapak dara dan tapak liman) tidak setinggi peningkatan persentase parasitemia kelompok kontrol. Hal ini berarti bahwa ekstrak etanol tumbuhan obat yang diteliti (johar, mahoni, pepaya, tapak dara dan tapak liman) dapat menghambat pertumbuhan *P. berghei* pada mencit.

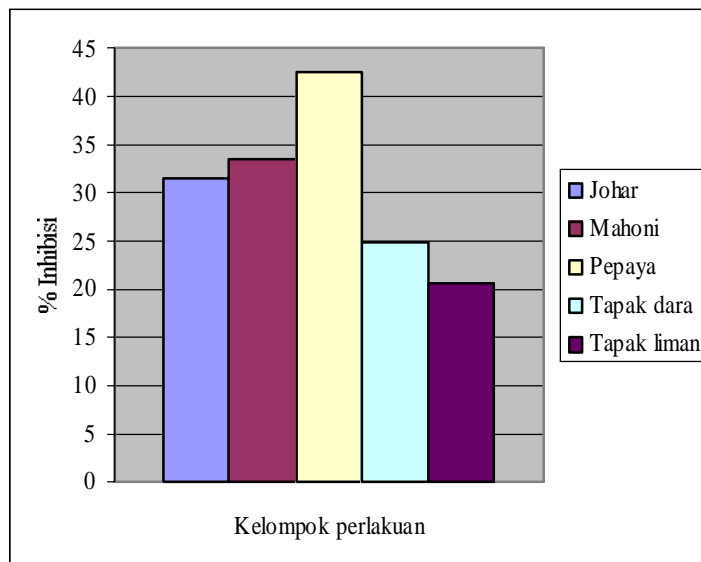


Gambar 1. Grafik rata-rata persentase parasitemia masing-masing kelompok perlakuan

Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Peters (1970), untuk mengetahui ekstrak mana yang memberikan efek antiplasmodium paling baik dilihat dari besarnya daya inhibisi ekstrak terhadap plasmodium yang dihitung berdasarkan persentase parasitemia hari keempat [10,11]. Prosen inhibisi terhadap Plasmodium dari masing-masing kelompok perlakuan tercantum pada tabel 2 dan gambar 2.

Tabel 2. Persentase Inhibisi terhadap Plasmodium dari Masing-masing Kelompok Perlakuan

Perlakuan	% Parasitemia H ₄	% Inhibisi
Kontrol	49,59	-
Johar	34,00	31,44
Pepaya	28,54	42,45
Mahoni	32,37	33,53
Tapak dara	37,27	24,84
Tapak liman	39,34	20,67



Gambar 2. Grafik batang persentase inhibisi masing-masing kelompok perlakuan

Pada tabel 2 dan gambar 2 terlihat bahwa aktivitas antiplasmodium terbaik diberikan oleh ekstrak etanol daun pepaya dengan prosen inhibisi sebesar 42,45%, diikuti dengan ekstrak etanol biji mahoni, daun johar, daun tapak dara dan akar tapak liman dengan prosen inhibisi masing-masing sebesar 33,53%, 31,44%, 24,84% dan 20,67%.

Hasil pengujian aktivitas antiplasmodium dilakukan dengan mengamati persentase parasitemia mencit hari keempat, sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Peters (1970). Data pengamatan hasil pengujian aktivitas antiplasmodium masing-masing kelompok perlakuan berdasarkan persentase parasitemia hari keempat dapat dilihat pada tabel 3.

Data yang diperoleh dari pengujian aktivitas antiplasmodium masing-masing kelompok perlakuan berdasarkan persentase parasitemia hari keempat, dianalisis dengan desain acak sempurna. Dari analisis tersebut diperoleh daftar ANAVA. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa dengan tingkat kepercayaan 95-99% terdapat perbedaan aktivitas antiplasmodium yang bermakna dari masing-masing kelompok perlakuan.

Tabel 3. Hasil Pengujian Aktivitas Antiplasmodium Masing-masing Kelompok Perlakuan Berdasarkan Persentase Parasitemia Hari Keempat (H_4)

Mencit ke	Perlakuan						Jumlah
	Kontrol	Johar	Mahoni	Pepaya	Tapak dara	Tapak liman	
1	45,73	33,50	30,40	22,73	32,20	42,67	207,23
2	56,24	35,60	35,22	26,57	34,90	37,96	226,49
3	46,80	32,90	31,50	36,32	44,71	37,39	229,62
Jumlah	148,77	102,00	97,12	85,62	111,81	118,02	663,34
Rata-rata	49,59±5,78	34,00±1,42	32,37±2,53	28,54±7,01	37,27±6,58	39,34±2,90	

3. Hasil Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap lima ekstrak etanol simplisia yang diteliti. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Penapisan Fitokimia

Metabolit	Johar	Mahon	Pepaya	Tapak dara	Tapak liman
Sekunder		i			
Alkaloid	+	-	+	+	-
Saponin	+	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+	-
Tanin	+	-	-	-	+
Polifenol	+	-	-	+	+
Kuinon	+	-	-	+	+
Steroid	-	-	-	-	-
Triterpenoid	+	-	-	+	-

Keterangan: (+) Terdeteksi; (-) Tidak Terdeteksi

Pada tabel 4 diperlihatkan bahwa daun johar (*Cassia siamea* Lamk.) mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, polifenol, kuinon, dan triterpenoid; daun pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung alkaloid, saponin dan flavonoid; daun tapak dara (*Catharanthus roseus* (L.)G.Don) mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol, kuinon, dan triterpenoid; akar tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) mengandung saponin, tanin, polifenol dan kuinon; biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King) mengandung saponin dan flavonoid. Hasil tersebut menunjukkan semua tumbuhan obat yang diuji mengandung alkaloid kecuali mahoni dan tapak liman; saponin dan flavonoid kecuali tapak liman.

Menurut Partomuan Simanjuntak (1995), dari hasil penelitian-penelitian sebelumnya terhadap tumbuhan obat tradisional untuk malaria diperoleh beberapa golongan zat bioaktif antimalaria diantaranya adalah alkaloid, terpen, kuinon, fenolik dan senyawa kimia lainnya.

Hasil penapisan fitokimia pada kelima tumbuhan yang diteliti, menunjukkan adanya kandungan beberapa zat aktif antimalaria sebagaimana yang telah dilaporkan oleh Simanjuntak. Hal ini memberikan dukungan data hasil uji eksperimental pada kelima tumbuhan yang diteliti yaitu johar, mahoni, pepaya, tapak dara, dan tapak liman yang secara etnofarmakologi berkhasiat sebagai antimalaria menunjukkan aktivitas antiplasmodium sesuai hasil penelitian-penelitian sebelumnya. Dalam penelitian ini, daun pepaya memberikan aktivitas antiplasmodium paling tinggi dibandingkan dengan biji mahoni, daun johar, daun tapak dara dan akar tapak liman yang kemungkinan dikarenakan besarnya aktivitas antiplasmodium dari senyawa metabolit sekunder dalam daun pepaya yang terdeteksi dengan penapisan fitokimia atau zat lain yang tidak terdeteksi dengan penapisan fitokimia tersebut.

Pada penelitian ini, data yang diamati adalah persentase parasitemia mencit yang dihitung berdasarkan jumlah eritrosit berparasit dan eritrosit tidak berparasit dalam sepuluh lapangan pandang mikroskop. Persentase parasitemia diamati 24 jam setelah inokulasi parasit sebelum pemberian sediaan uji pertama (H_0), kemudian 24 setelah pemberian sediaan uji pertama (H_1), demikian selanjutnya sampai 24 jam setelah pemberian sediaan uji keempat (H_4). Pemeriksaan darah dilakukan setiap hari selama lima hari berturut-turut untuk mengetahui potensi pengaruh ekstrak etanol beberapa tumbuhan obat (johar, mahoni, pepaya, tapak dara dan tapak liman) terhadap Plasmodium; ternyata ekstrak etanol tumbuhan obat yang diuji tersebut dapat menekan pertumbuhan *P. berghei* dalam darah mencit.

Dari hasil pengamatan parasitemia pada hari keempat diketahui bahwa ekstrak etanol daun johar, biji mahoni, daun pepaya, daun tapak dara dan akar tapak liman dapat menghambat peningkatan persentase parasitemia *P. berghei* pada mencit. Setelah dianalisis dengan ANAVA yang dilanjutkan dengan uji Newman-Keuls ternyata semua tumbuhan obat yang diuji pada penelitian ini menunjukkan aktivitas antiplasmodium yang berbeda bermakna ($\alpha=0,01$) dibandingkan kelompok kontrol.

Pada penelitian ini tidak digunakan obat umum yang biasa digunakan untuk mengobati malaria pada manusia, karena penelitian ini ditujukan sebagai uji pendahuluan untuk melihat indikasi antimalaria dari tumbuhan obat yang diteliti.

III. PENUTUP

Kesimpulan

Dari lima ekstrak etanol simplisia tumbuhan obat yang diteliti (daun johar, biji mahoni, daun pepaya, daun tapak dara dan akar tapak liman), kelimanya memberikan aktivitas antiplasmodium yang bermakna ($\alpha=0,01$) dibandingkan dengan kontrol. Ekstrak etanol yang memiliki aktivitas antiplasmodium terbaik adalah ekstrak etanol daun pepaya dengan prosen inhibisi sebesar 42,45%. Diikuti oleh ekstrak etanol biji mahoni, daun johar, daun tapak dara dan akar tapak liman dengan prosen inhibisi masing-masing sebesar 33,53%, 31,44%, 24,84% dan 20,67%.

Daftar Pustaka

1. Gandahusada, S., Ilahude, H.H., dan Pribadi, W., 1998, *Parasitologi Kedokteran, Edisi Ketiga*, FKUI, Penerbit Gaya Baru, Jakarta, 171-209.
2. Milhous, W.K. and Kyle, D.F, 1998, *Introduction to the modes of action of and mechanisms of resistance to antimalarials*, In: Irwin W. Sherman, *Malaria: Parasite Biology, Pathogenesis and Protection*, ASM Press, Washington, DC., 303-312.
3. Dzulkarnain, H.B., 2002, *Bukan Cuma Kina Untuk Malaria, Intisari Tanaman Berkhasiat Obat*, PT Gramedia, Jakarta, 76-81.
4. Dewi, R.M., Harijani A.M., Emiliana T., Suwarni, Rabea P.Yekti, 1996, *Keadaan hematologis mencit yang diinfeksi dengan Plasmodium berghei. Cermin Dunia Kedokteran*, 106 : 37-40.
5. Syafruddin, Siregar, J.E., dan Marzuki, S., 1999, *Mutations in the cytochrome b gen of Plasmodium berghei conferring resistance to Atovaquone*, Mol. Biochem. Par. 104: 185.
6. Mursito, B., 2002, *Ramuan Tradisional untuk Penyakit Malaria*, Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.

7. Sangat, H.M., Zuhud, E.A.M., Damayanti, E.K., 2000, *Kamus Penyakit Tumbuhan Obat Indonesia (Etnofitomedika)*, Pustaka Populer Obor, Jakarta.
8. Sastroamidjojo, S., 1997, *Obat Asli Indonesia*, Penerbit Dian Rakyat, Jakarta.
9. Zambrut, A., Gusmali, D.M., dan Mukhtar, M.H., 2001, *Aktivitas antimalaria senyawa tinokrisposid secara in vivo*, *Cermin Dunia Kedokteran*, 131:27-31.
10. Mulyaningsih, B., 1995, *Penelitian pengaruh berbagai tanaman obat terhadap parasit malaria*, *Majalah Farmasi Indonesia*, 6(4) : 129-136.
11. Mulyaningsih, B. dan Sudarsono, 2001, *Penentuan aktivitas antimalaria minyak dari biji mimba (Azadirachta indica A. Juss) yang diberikan per-oral pada hewan uji mencit (Swiss mice)*, *Jurnal Kedokteran Yarsi*, 9(3): 17-24.