

JOURNAL OF THE INDONESIAN MEDICAL ASSOCIATION

MAJALAH KEDOKTERAN INDONESIA



Volum 63:
NOMOR: 3, Maret 2013

Editorial

Media vs. Medical Professionals to Fight Low Health Literacy

- Kholisah Nasution

Artikel Penelitian

Gambaran Kebutuhan Hidup Penyandang Skizofrenia

The Needs of Schizophrenic People

- Sulistiana Dewi, Sylvia Detri Elvira, Richard Budiman

Pengaruh Obat Antituberkulosis-Kombinasi Dosis Tetap terhadap Kadar Asam Urat pada Pasien Tuberkulosis Paru

The Effect of Fixed Dose Combination of Antituberculosis Agents to Uric Acid Levels in Patients with Pulmonary Tuberculosis

- Diana, Adeodata Maria Caroline Karema-Kaparang, Julia Cornelia Matheos

Potensi Beberapa Senyawa Xanthone sebagai Antioksidan dan Antimalaria serta Sinergisme dengan Artemisinin in Vitro

The Potency of Xanthenes as Antioxidant and Antimalarial, and their Synergism with Artemisinin in Vitro

- Susy Tjahjani, Wahyu Widowati

Vascular Endothelial Growth Factor Air Mata sebagai Faktor Risiko Tumbuh Ulang Pterygium

Vascular Endothelial Growth Factor in Tears as Risk Factor to Pterygium Recurrence

- Josefien Saartje Marie Saerang

Efek Minyak Buah Merah terhadap Ekspresi NF- κ B pada Colitis-Associated Cancer

The Effect of Red Fruit Oil Toward NF- κ B Expression on Colitis-Associated Cancer Mice Model

- Oeji Anindita Adhika, Muchtan Sujatno, Reni Ferenia

Artikel Pengembangan Pendidikan Keprofesian Berkelanjutan (P2KB)

Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan

Ethical Use of Animals in Medical Research

- Endi Ridwan

Daftar Isi:

Halaman

Pedoman Bagi Penulis (*Instruction for Authors*)

Editorial

1. Media vs. Medical Professionals to Fight Low Health Literacy 81
- Kholisah Nasution

Artikel Penelitian

2. Gambaran Kebutuhan Hidup Penyandang Skizofrenia 84
- Sulistiana Dewi, Sylvia Detri Elvira, Richard Budiman
3. Pengaruh Obat Antituberkulosis-Kombinasi Dosis Tetap terhadap Kadar Asam Urat pada Pasien Tuberkulosis Paru 91
- Diana, Adeodata Maria Caroline Karema-Kaparang, Julia Cornelia Matheos
4. Potensi Beberapa Senyawa Xanthone sebagai Antioksidan dan Antimalaria serta Sinergisme dengan Artemisinin *in Vitro* 95
- Susy Tjahjani, Wahyu Widowati
5. *Vascular Endothelial Growth Factor* Air Mata sebagai Faktor Risiko Tumbuh Ulang Pterygium 100
- Josefien Saartje Marie Saerang
6. Efek Minyak Buah Merah terhadap Ekspresi NF- κ B pada *Colitis-Associated Cancer* 106
- Oeij Anindita Adhika, Muchtan Sujatno, Reni Ferenia

Artikel Pengembangan Pendidikan Keprofesian Berkelanjutan (P2KB)

7. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan 112
- Endi Ridwan

Journal of the Indonesian Medical Association

Majalah Kedokteran Indonesia

TERAKREDITASI

Sesuai SK DIKTI Nomor: 51/DIKTI/Kep/2010
Masa berlaku tanggal, 5 Juli 2010 - 5 Juli 2013

Potensi Beberapa Senyawa Xanthone sebagai Antioksidan dan Anti-malaria serta Sinergisme dengan Artemisinin *in Vitro*

Susy Tjahjani,* Wahyu Widowati**

*Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung

**Bagian Biologi, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung

Abstrak

Pendahuluan: Artemisinin dalam *artemisinin based combination therapy* (ACT) untuk mengatasi resistensi obat bekerja melalui produksi radikal bebas. Xanthone merupakan antioksidan serta dapat menghambat polimerisasi hem *in vitro* sehingga diharapkan memiliki efek anti-malaria. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi *alpha mangostin*, *gamma mangostin*, *garcinone C*, *garcinone D* sebagai antioksidan dengan uji pemerangkapan *diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH), anti-malaria *falciparum*, dan sinergisme dengan artemisinin secara *in vitro*.

Metode: Uji pemerangkapan DPPH dilakukan sesuai dengan teknik Unlu, et al., kemudian dilakukan penghitungan IC_{50} pemerangkapan dengan analisis regresi korelasi. Uji anti-malaria senyawa tunggal dan kombinasi masing-masing senyawa dengan artemisinin dilakukan dalam kultur *P. falciparum* galur 3D7 *in vitro* sesuai dengan Budimulja, et al. Kemudian ditentukan IC_{50} berdasarkan analisis probit dan FIC_{50} dihitung berdasarkan rumus tertentu.

Hasil: Keempat senyawa xanthone mempunyai IC_{50} pemerangkapan DPPH $<200 \mu M$. *Alpha mangostin*, *gamma mangostin*, dan *garcinone C* merupakan senyawa dengan aktivitas anti-malaria dengan $IC_{50} <1 \mu g/ml$, sedangkan *garcinone D* mempunyai IC_{50} 1-10 $\mu g/ml$. FIC_{50} pada kombinasi keempat xanthone dengan artemisinin masing-masing sebesar <1 .

Kesimpulan: Keempat senyawa xanthone berpotensi sebagai antioksidan dengan uji pemerangkapan DPPH, anti-malaria *falciparum*, dan bekerja sinergistik dengan artemisinin *in vitro* sebagai anti-malaria *falciparum*. *J Indon Med Assoc.* 2013;63:95-9.

Kata kunci: xanthone, DPPH, anti-malaria *falciparum*, artemisinin, sinergisme

Korespondensi: Susy Tjahjani,
Email: susy_tjahjani@yahoo.com

The Potency of Xanthenes as Antioxidant and Antimalarial, and their Synergism with Artemisinin *in Vitro*

Susy Tjahjani,* Wahyu Widowati**

*Department of Parasitology, Faculty of Medicine Universitas Kristen Maranatha, Bandung

**Department of Biology, Faculty of Medicine Universitas Kristen Maranatha, Bandung

Abstract

Introduction: Artemisinin in artemisinin based combination therapy (ACT) was used to overcome the resistance caused by free radical overproduction. Xanthone as antioxidant can also inhibit *in vitro* heme polymerization, therefore it is predicted has anti-malaria activity. The aim of this study is to evaluate the potency of alpha mangostin, gamma mangostin, garcinone C, and garcinone D as antioxidant by determination of DPPH scavenging activity, falciparum antimalarial, and their synergism with artemisinin as antimalarial falciparum *in vitro*.

Method: Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity was examined according to Unlu, et al.'s technique and the IC_{50} was determined by correlation regression analysis. Antimalarial activity of each xanthone and its combination with artemisinin was evaluated in *P. falciparum* strain 3D7 culture according to Budimulja, et al. Their IC_{50} was calculated by probit analysis and FIC_{50} was counted according to the formula.

Results: All of these xanthenes had IC_{50} of DPPH scavenging activity $<200 \mu M$. Alpha mangostin, gamma mangostin, and garcinone C had anti-malaria activity with $IC_{50} <1 \mu g/ml$, but garcinone D had $IC_{50} 1-10 \mu g/ml$. FIC_{50} of all xanthone and artemisinin combinations were <1 .

Conclusions: All of xanthenes have antioxidant potency by determination of DPPH scavenging activity, antimalarial potency and work synergistically with artemisinin as falciparum antimalarial *in vitro*. *J Indon Med Assoc.* 2013;63:95-9.

Keywords: xanthone, DPPH, falciparum antimalarial, artemisinin, synergism

Pendahuluan

Selama tahun 2010 diperkirakan terdapat 219 juta kasus malaria di dunia dengan kematian sebanyak 660.000 kasus. Kematian banyak terjadi pada anak-anak di Afrika dan diperkirakan tiap menitnya satu anak meninggal karena malaria. Plasmodium yang paling sering menyerang manusia adalah *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*. Namun, yang paling sering menyebabkan kematian adalah *P. falciparum*.¹ Hal ini disebabkan oleh virulensi dan timbulnya resistensi obat konvensional.^{2,3}

Di seluruh Indonesia didapatkan pula resistensi terhadap klorokuin dan antifolat yang berkaitan dengan polimorfisme gen.^{4,5} Pembentukan radikal bebas baik oleh proses pencernaan hemoglobin dan reaksi Fenton dalam vakuola makanan parasit maupun proses dalam mitokondria parasit juga merupakan penyebab resistensi.⁶ Selain itu respon imun inang pada malaria melalui serangkaian reaksi yang menyebabkan peningkatan radikal bebas⁷ berhubungan dengan sitoaderen yang berkaitan dengan malaria berat.⁸

Artemisinin merupakan salah satu komponen dalam artemisinin based combination therapy (ACT) dan digunakan untuk mengatasi resistensi obat.⁹ Mekanisme

kerja obat ini adalah melalui pembentukan radikal bebas dengan memecah gugus jembatan endoperoksida dalam molekul artemisinin. Pemecahan ini terjadi karena reaksi dengan katalisator dalam hem menghasilkan suatu spesies radikal reaktif yang dapat memodifikasi berbagai macam protein parasit serta merusak membran parasit termasuk mitokondria, retikulum endoplasmik kasar serta membran plasma sehingga membunuh parasit tersebut.^{10,11} Selain itu reaksi antara artemisinin dengan hem dalam hemoglobin lebih cepat membentuk hemarts dibandingkan dengan hem bebas hasil pencernaan hemoglobin oleh parasit. Hemarts ini berkompetisi dengan hem bebas untuk berikatan dengan *Plasmodium falciparum* histidine rich protein II (Pfhrp II) sehingga polimerisasi hem membentuk hemozoin dihambat dan terjadi kematian parasit.¹²

Artemisinin dalam sitosol *Plasmodium* juga berikatan dan menghambat sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA) sehingga mengganggu keseimbangan konsentrasi ion kalsium. Hal ini yang mengakibatkan terhambatnya endositosis sitosol eritrosit oleh parasit tersebut. Selain itu, ikatan tersebut kemudian bergabung dengan hem (termasuk hem yang terdapat dalam enzim rantai respirasi di

mitokondria parasit) sehingga menyebabkan timbulnya radikal bebas karbon yang akan merusak membran mitokondria, endoplasmik retikulum, serta membran parasit.¹³

Oleh karena itu, pasien dengan malaria memerlukan antioksidan yang dapat memerangkap radikal bebas terutama jika diberi obat golongan artemisinin. *Xanthone* merupakan senyawa yang bersifat antioksidan^{14,15} dan dapat menghambat hem polimerase secara *in vitro*¹⁶ sehingga diperkirakan mempunyai potensi sebagai anti-malaria. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan dengan memerangkap radikal bebas DPPH, daya anti-malaria *falciparum*, serta sinergisme dengan artemisinin sebagai anti-malaria *falciparum* beberapa senyawa *xanthone* yaitu *alpha mangostin*, *gamma mangostin*, *garcinone C*, dan *garcinone D* terhadap *P. falciparum* *in vitro*.

Metode

Penelitian ini dilakukan di pusat penelitian ilmu kedokteran (PPIK) Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha dan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Penelitian berlangsung sejak Maret sampai Oktober 2012.

Artemisinin ($C_{15}H_{22}O_5$) diperoleh dari Aldrich (St. Louis, USA), sedangkan *alpha mangostin*, *gamma mangostin*, *garcinone C*, dan *garcinone D* dari Chengdu Biopurify Phytochemicals Ltd (CAS No 6147-11-1). Uji pemerangkapan radikal bebas DPPH dilakukan sesuai dengan Unlu, *et al.*¹⁷ Sebanyak 200 μ l DPPH 0,077 mmol dalam metanol ditambahkan dengan 50 μ l sampel (pada *microplate*). Campuran diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit, lalu diukur nilai absorbans pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan *microplate reader*. Sebagai kontrol negatif digunakan DPPH sebanyak 250 μ l, sedangkan untuk blangko digunakan metanol absolut sebanyak 250 μ l. Aktivitas antioksidan metode DPPH (%) dihitung dengan rumus: $1 - (\text{absorbans sampel} / \text{absorbans kontrol negatif}) * 100$. Kemudian, dilakukan analisis regresi korelasi terhadap persentase pemerangkapan DPPH sehingga diperoleh nilai IC_{50} pemerangkapan DPPH.

Uji anti-malaria senyawa *xanthone* dilakukan terhadap kultur *P. falciparum* galur 3D7 secara *in vitro*, yang diperoleh dari Lembaga Eijkman, Jakarta. Kultur dari Lembaga Eijkman pernah digunakan oleh peneliti lain.¹⁸ Kultur parasit diduplikasi dalam *microplate* 24 sumur yang berisi berbagai konsentrasi senyawa *xanthone*. Pertumbuhan parasit diawasi pada awal perlakuan dan setelah 48 jam dengan memeriksa persentase parasit pada apus pelet kultur penilaian. Respon pertumbuhan parasit terhadap berbagai konsentrasi senyawa tersebut dilakukan dengan analisis *probit* dalam program SPSS untuk menilai konsentrasi penghambatan 50% (*inhibitory concentration 50 - IC₅₀*).

Uji sinergisme senyawa *xanthone* dengan artemisinin diperiksa dengan cara seperti uji anti-malaria. Perbandingan campuran artemisinin dengan *xanthone* adalah 1:1, tetapi konsentrasi campuran tersebut berbeda dalam 24 sumur yang

ada. Selanjutnya IC_{50} campuran senyawa tersebut diukur dan ditentukan FIC_{50} (*fractional inhibition concentration 50%*) campuran senyawa *xanthone* dan artemisinin dengan menggunakan rumus $FIC_{50} = \frac{IC_{50} \text{ xanthone} + IC_{50} \text{ artemisinin}}{IC_{50} \text{ xanthone} + IC_{50} \text{ artemisinin}}$. Kedua senyawa dikatakan sinergis jika $FIC_{50} < 1$, aditif jika $FIC_{50} = 1$, dan antagonis jika $FIC_{50} > 1$.¹⁹

Hasil

Hasil uji pemerangkapan radikal bebas DPPH senyawa *xanthone* dapat dilihat pada tabel 1 sampai 4. Hasil anti-malaria senyawa *xanthone* dan kombinasi *xanthone* dengan artemisinin tampak dalam tabel V.

Diskusi

Seperti tampak pada Tabel 1, Tabel 2, Tabel 3, dan Tabel 4, senyawa *alpha mangostin*, *gamma mangostin*, *garcinone C*, dan *garcinone D* masing-masing memiliki aktivitas pemerangkapan DPPH dengan $IC_{50} < 200 \mu\text{g/mL}$. Hal ini berarti

Tabel 1. Pemerangkapan Radikal Bebas DPPH oleh *Alpha Mangostin*

Sampel	Persamaan Linear	R2	IC ₅₀ (μg/ml)	Rerata±SD IC ₅₀ (μg/ml)
<i>Alpha mangostin</i>	Y=0.6421X+0,3987	0,9061	77,25	
<i>Alpha mangostin</i>	Y=0.5214X+0,608	0,8777	94,73	66.63±34.65
<i>Alpha mangostin</i>	Y=1.9823X-5,3448	0,9438	27,92	

Tabel 2. Pemerangkapan Radikal Bebas DPPH oleh *Gamma Mangostin*

Sampel	Persamaan linear	R2	IC ₅₀ (μg/ml)	Rerata±SD IC ₅₀ (μg/ml)
<i>Gamma mangostin</i>	Y=15.512X+8.4381	0.9114	2.68	
<i>Gamma mangostin</i>	Y=15.437X+7.2303	0.9440	2.77	2.69±30.07
<i>Gamma mangostin</i>	Y=14.954X+10.631	0.9353	2.63	

Tabel 3. Pemerangkapan radikal bebas DPPH oleh *garcinone C*

Sampel	Persamaan linear	R2	IC ₅₀ (μg/ml)	Rerata±SD IC ₅₀ (μg/ml)
<i>Garcinone C</i>	Y=11.908X+12.581	0.9576	3.142	
<i>Garcinone C</i>	Y=12.638X+11.608	0.9660	3.038	3.039±0.102
<i>Garcinone C</i>	Y=12.876X+12.168			

Tabel 4. Pemerangkapan radikal bebas DPPH oleh *garcinone D*

Sampel	Persamaan linear	R ²	IC ₅₀ (µg/ml)	Rerata±SD IC ₅₀ (µg/ml)
<i>Garcinone D</i>	Y=0.3118X+2.0098	0.8977	153.913	
<i>Garcinone D</i>	Y=0.354X+2.6132	0.863	133.861	143.386±10.064
<i>Garcinone D</i>	Y=0.3309X+2.8854	0.8217	142.383	

Tabel 5. Kemampuan Anti-Malaria *Xanthone*, Kombinasi *Xanthone* dengan Artemisinin, dan Interaksi Anti-Malaria Antara *Xanthone* dengan Artemisinin

Jenis <i>xanthone</i>	IC ₅₀ tunggal (µg/mL)	IC ₅₀ kombinasi dengan artemisinin (µg/mL)	FIC ₅₀
<i>α mangostin</i>	0,003	0,001-0,0001	<1
<i>γ mangostin</i>	0,03	0,001-0,0001	<1
<i>Garcinone C</i>	0,233	<0,000001	<1
<i>Garcinone D</i>	1-10	0,0001-0,00001	<1

keempat senyawa *xanthone* memiliki aktivitas pemerangkapan DPPH yang tinggi dan berpotensi sebagai antioksidan.²⁰

Tampak pada Tabel 5, bahwa *alpha mangostin*, *gamma mangostin*, dan *garcinone C* merupakan senyawa dengan aktivitas anti-malaria yang sangat aktif (IC₅₀<1 µg/mL), sedangkan *garcinone D* merupakan senyawa yang memiliki aktivitas anti-malaria derajat sedang.²¹ Hal ini berbeda dengan penelitian anti-malaria terdahulu terhadap *P. falciparum* dengan hasil IC₅₀ *alpha mangostin* terhadap *P. falciparum* sebesar 5,1 µM.²² Berat molekul *alpha mangostin* adalah 410²³, berarti IC₅₀ *alpha mangostin* pada penelitian itu adalah 2,09 µg/ml yang berarti memiliki aktivitas anti-malaria derajat sedang.²¹ Hasil IC₅₀ *alpha mangostin* yang berbeda ini dapat disebabkan oleh uji yang dilakukan terhadap galur *P. falciparum* yang berbeda. Aktivitas anti-malaria senyawa *xanthone* ini melalui aktivitasnya sebagai inhibitor polimerisasi hem.¹⁶

IC₅₀ artemisinin terhadap *P. falciparum* galur 3D7 = 3,4 x 10⁻⁸ M = 0,0096 µg/mL.²⁴ Setelah dihitung, maka diperoleh nilai FIC₅₀ pada kombinasi masing-masing *xanthone* dengan artemisinin yang besarnya masing-masing <1. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa *xanthone* tersebut (*alpha mangostin*, *gamma mangostin*, *garcinone C*, dan *garcinone D*) bersinergi dengan artemisinin sebagai anti-malaria. Hal ini dapat terjadi karena artemisinin lebih cepat bereaksi dengan hem dalam hemoglobin membentuk *hemarts* dibandingkan hem bebas sebagai produk pencernaan hemoglobin oleh parasit. Aktivitas anti-malaria senyawa *xanthone* juga disebabkan oleh aktivitasnya sebagai inhibitor polimerisasi hem.¹⁶

Kesimpulan

Senyawa *alpha mangostin*, *gamma mangostin*, *garcinone C*, *garcinone D* memiliki aktivitas antioksidan pemerangkapan DPPH yang tinggi, anti-malaria, dan bersinergi dengan artemisinin sebagai anti-malaria *in vitro*.

Ucapan Terimakasih

Penulis berterima kasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah mendanai penelitian ini melalui program hibah unggulan perguruan tinggi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Daftar Pustaka

- WHO. Malaria [monograph on the Internet]. Geneva: WHO Media Centre; 2012. [cited 2012 May 17]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/>.
- Kirk K. Membrane transport in malaria-infected erythrocyte. *Physiol Rev*. 2001;81(2):495-537.
- Winstanley PA. Chemotherapy for falciparum malaria: The armoury, the problems and the prospects. *Parasitol Today*. 2000; 16:146-53.
- Syafruddin D, Asih PBS, Casey GJ, Maguire J, Baird JK, Nagesha HS, et al. Molecular epidemiology of *Plasmodium falciparum* resistance to antimalarial drugs in Indonesia. *Am J Trop Med Hyg*. 2005;72(2):174-81.
- Syafruddin D, Asih PBS, Wahid I, Dewi RM, Tuti S, Laowo I, et al. Malaria prevalence in Nias District, North Sumatra Province, Indonesia. *Malar J*. 2007;6:116.
- Müller S. Redox and antioxidant systems of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Mol Microbiol*. 2004;53(5):1291.
- Wiser, Mark F. Malaria [monograph on the Internet]. New Orleans: Tulane University; 2008 [cited 2008 Dec 11]. Available from: <http://www.tulane.edu/~wiser/protozoology/notes/malaria.html>.
- Pino P, Vouldoukis I, Dugas N, Hassani-Loppion G, Dugas B, Mazier D. Redox-dependent apoptosis in human endothelial cells after adhesion of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *Ann N Y Acad Sci*. 2003;1010:582-6.
- WHO. Facts on ACTs (artemisinin-base combination therapies) [monograph on the Internet]. Geneva: Roll Back Malaria Partnership; 2006 [cited 2008 Mar 12]. Available from: http://www.rbm.who.int/cm_upload/0/000/015/364/RBMInfoSheet_9.htm.
- Gordi T. Clinical pharmacokinetics of the antimalarial artemisinin based on saliva sampling [dissertation]. Uppsala: Universitas Upsaliensis; 2001.
- Tonmunphean S, Parasuk V, Kokpol S. Automated calculation of docking of artemisinin to heme. *J Mol Model*. 2001;7:26-33.
- Kannan R, Kumar K, Sahal D, Kukreti S, Chauhan VS. Reaction of artemisinin with hemoglobin: implications for antimalarial activity. *Biochem J*. 2005;385(Pt 2):409-18.
- Golenser J, Waknine JH, Krugliak M, Hunt NH, Grau GE. Current perspectives on the mechanism of action of artemisinins. *Int J Parasitol*. 2006;36(14):1427-41.
- Zarena AS, Sankar KU. Screening of xanthone from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) peels and their effect on cytochrome c reductase and phosphomolybdenum activity. *J Nat Prod*. 2009; 2:23-30.
- Chomnawang MT, Surassmo S, Nukoolkarn VS, Gritsanapan W. Effect of *Garcinia mangostana* on inflammation caused by *Propionibacterium acnes*. *Fitoterapia*. 2007;78:401-8.
- Ignatushchenko MV, Winter RW, Riscoe M. Xanthenes as anti-

- malarial agents: stage specificity. *Am J Trop Med Hyg.* 2000; 62(1):77-81.
17. Unlu GV, Candan F, Sokmen A, Dafefera D, Polissiou M, Sokmen E, et al. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *J Agric Food Chem.* 2003;51:63-7.
 18. Budimulja AS, Syafruddin D, Tapchaisri P, Wilariat P, Marzuki S. *Sensitivities*. 1997;84:137-41.
 19. Ohrt C, Willingmyre GD, Lee P, Knirsch C, Milhous W. Assessment of azithromycin in combination with other antimalarial drugs against *Plasmodium falciparum* *in vitro*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(8):2518-24.
 20. Lee SK, Mbwambo ZH, Chung HS, Luyengi L, Gamez EJC, Mehta RG, et al. Evaluation of the antioxidant potential of natural products. *Comb Chem High Throughput Screen.* 1998;1(1):35-46.
 21. Ramalhete C, Lopes D, Mulhovo S, Rosário VE, Ferreira MJU. Antimalarial activity of some plants traditionally used in Mozambique. Proceedings of Workshop Plantas Mediciniais e Fitoterapêuticas nos Trópicos. Available from: http://2.iict.pt/archive/doc/C_Ramalhete_wrkshp_plts_medic.pdf.
 22. Chaverri JP, Rodríguez NC, Ibarra MO, Rojas JMP. Medicinal Properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food Chem Toxicol.* 2008;46:3227-39.
 23. Shibata MA, Iinuma M, Morimoto J, Kurose H, Akamatsu K, Okuno Y, et al. α -Mangostin extracted from the pericarp of the mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn) reduces tumor growth and lymph node metastasis in an immunocompetent xenograft model of metastatic mammary cancer carrying a p53 mutation. *BMC Med.* 2011;9:69.
 24. Tjahjani S. Pengaruh asam L-asorbat terhadap sel inang dan aktivitas anti-malaria artemisinin dengan parameter kadar MDA dan GSH, viabilitas HUVEC, dan derajat parasitemia [dissertation]. Bandung: Universitas Padjadjaran; 2008.

