

SENYAWA BIOAKTIF DARI ERYTHRINA VARIEGATA (LEGUMINOSAE)

(Bioactive Compound of Erythrina Variegata (Leguminosae))

Tati Herlina¹, Abdul Muis¹, Unang Supratman¹, Anas Subarnas², Supriyatna
Sutardjo², Syafruddin³ dan Hideo Hayashi⁴

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Padjadjaran, Jatinangor 45643, Sumedang, Indonesia

²Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Padjadjaran, Jatinangor 45643, Sumedang, Indonesia

³Eijkman Institute for Molecular Biology, Jakarta

⁴Laboratory of Natural Products Chemistry, Division of Applied Biological Chemistry, Graduate School
of Agriculture and Life Science, Osaka Prefecture University, 1-1 Gakuen-cho, Sakai, Osaka 599-8531,
Japan

Email : tatat_04her@yahoo.com

ABSTRAK

Dalam penelitian yang berkelanjutan ini bertujuan untuk menemukan senyawa bioaktif alami dari tanaman Indonesia, diperoleh hasil bahwa ekstrak metanol dari biji *Erythrina variegata* (Leguminosae) menunjukkan aktivitas paralitik dan daun *E. variegata* menunjukkan aktivitas antimalaria. Ekstrak metanol dipisahkan komponennya dengan kombinasi kolom kromatografi diperoleh dua senyawa aktif (1 dan 2). Struktur kimia senyawa aktif (1 dan 2) ditetapkan berdasarkan data-data spektroskopi dan perbandingan data dari senyawa yang berhubungan dari penelitian sebelumnya, dan diidentifikasi sebagai alkaloid eritrina (1) dan turunan triterpenoid pentasiklik (2). Senyawa (1) memperlihatkan aktivitas paralitik terhadap instar ketiga ulat sutera (*Bombyx mori*) dengan ED₅₀ 15 µg/g diet. Senyawa (2) memperlihatkan aktivitas antimalaria dengan IC₅₀ 0,243 µg/mL terhadap pertumbuhan *P. falciparum* secara *in vitro*.

Kata kunci: *Erythrina variegata*, Leguminosae, aktivitas paralitik, antimalaria.

ABSTRACT

In the course of our continuing search aiming for novel bioactive compound from Indonesian plants, the methanol or extract of the seed and leave of *Erythrina variegata* (Leguminosae) showed significant paralytic and antimalaria activity. By using the activity compound to follow the separations, the methanol extract was separated by combination of column chromatography to yield two active compounds (1 and 2). The chemical structures of active compounds were determined on the basis of spectroscopic evidence and comparison with the previously reported and identified as an erythrina alkaloid (1) and a penta- cyclic triterpenoide derivated (2). The compound (1) showed paralytic activity against third instar larvae of silkworm (*Bombyx mori*) with their ED₅₀ value was 15µg/g diet. The compound (2) showed antimalaria activity against *P. falciparum in vitro* IC₅₀ value that was 0.243 µg/mL.

Keywords: *Erythrina variegata*, Leguminosae, paralytic activity, antimalaria.

Makalah telah dipresentasikan pada Seminar Nasional DIES ke 50 FMIPA UGM 17 September 2005.

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar di dunia dengan lebih dari 30 ribu spesies tanaman berkhasiat mengobati melalui penelitian ilmiah. Hanya sekitar 180 spesies tersebut telah dimanfaatkan dalam tanaman obat tradisional oleh industri obat tradisional Indonesia (DepKes, 2000). Hal ini disebabkan pemanfaatan tumbuhan obat Indonesia untuk mengobati suatu penyakit biasanya hanya berdasarkan pengalaman empiris yang diwariskan secara turun temurun tanpa disertai data penunjang yang memenuhi persyaratan. Untuk dapat diterima dalam pengobatan modern, beberapa persyaratan yang harus dipenuhi terutama adalah kandungan zat aktifnya, sehingga selain khasiat, tingkat keamanannya dapat diprediksi dengan mudah (Atamini, 2001).

Tumbuhan obat Indonesia yang telah banyak digunakan oleh masyarakat dalam pengobatan anthelmintic dan malaria secara tradisional adalah *E. variegata* (Mursito, 2002). *E. variegata* di Indonesia dikenal dengan sebutan dadap ayam (Heyne, 1987). Bagian tumbuhan *E. variegata* yang digunakan dalam pengobatan tradisional adalah kulit batang, daun, akar dan biji yang dilaporkan mengandung senyawa-senyawa alkaloid (Chawla, *et al.*, 1988), serta beberapa senyawa golongan flavonoid dan isoflavonoid (Tanaka, *et al.*, 2000; Sato, *et al.*, 2000).

Dalam penelitian berkelanjutan digunakan untuk pencarian senyawa bioaktif baru yang berasal dari tumbuhan obat Indonesia, kami telah menemukan bahwa ekstrak metanol *E. variegata* menunjukkan aktivitas parolitik dan antimalaria yang kuat (Supriyatna, *et al.*, 2004). Pada makalah ini kami akan memaparkan isolasi, penentuan struktur, dan uji aktivitas senyawa dari biji dan daun *E. variegata*.

2. METODE PERCOBAAN

2.1 Umum

Penentuan titik leleh dilakukan pada alat Fischer-John Melting point apparatus.

Spektrum IR diukur dengan FTIR-Shimadzu series 8400. Spektrum ^1H dan ^{13}C -NMR diukur menggunakan spectra JEOL JNM A-400, yang bekerja pada 400 MHz (^1H -NMR) dan 125 MHz (^{13}C -NMR) dengan TMS sebagai standar internal. Kromatografi kolom dilakukan dengan menggunakan silika gel Merck 60 GF₂₅₄. Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) pada plat berlapis silika gel Merck 60 GF₂₅₄.

2.2 Pengumpulan Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian biji dan daun dadap ayam (*E. variegata*) yang diperoleh dari hutan lindung di daerah Ciater Kabupaten Subang. Bahan ini dideterminasi di laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, FMIPA, Institut Teknologi Bandung.

2.3 Ekstraksi dan Isolasi

Serbuk biji *E. variegata* (5 kg) diekstraksi dengan metanol dengan teknik maserasi. Ekstrak metanol pekat diasamkan dengan asam sulfat sampai pH 2-3, selanjutnya dipartisi dengan diklorometana. Ekstrak diklorometana dibasakan sampai pH 9-10. Kemudian ekstrak diklorometana basa pekat dipisahkan menggunakan kromatografi kolom dengan silika gel G 60 dan eluen kloroform-metanol (9,5 : 0,5), diperoleh fraksi aktif D (59,5 mg). Selanjutnya fraksi aktif D dipisahkan dengan kromatografi kolom silika gel G 60 dan eluen *n*-heksana-aseton (3:2), diperoleh senyawa aktif 1 (3 mg).

Serbuk daun *E. variegata* (2 Kg) diekstraksi dengan metanol dengan teknik maserasi tiga kali berturut-turut masing-masing 24 jam menghasilkan ekstrak metanol (150 g). Selanjutnya ekstrak metanol dipartisi dengan diklorometana-air (3:1) menghasilkan fraksi diklorometana (50g). Fraksi diklorometana ini dilarutkan ke dalam metanol 20% air yang selanjutnya dipartisi berturut-turut ke dalam *n*-heksana dan etilasetat. Fraksi etilasetat (8 g) menunjukkan aktivitas antimalaria terhadap *P. falciparum*, selanjutnya difraksionasi dengan cara kromatografi vakum cair (KVC) dengan

eluen campuran *n*-heksan-etilasetat secara bergradien, menghasilkan sepuluh fraksi utama. Fraksi utama ke empat ($E_4 = 286$ mg) difraksinasi lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi kolom tekan (KKT) eluen (*n*-heksana-kloroform-metanol = 0,5:9:0,5) diperoleh enam fraksi gabungan. Fraksi ke enam ($E_{46} = 141,8$ mg) difraksinasi lebih lanjut dengan KKT menggunakan silika gel G 60 (*n*-heksana-kloroform-etilasetat = 6:1:3), menghasilkan empat fraksi gabungan. Fraksi gabungan ke tiga ($E_{463} = 5,8$ mg) dimurnikan dengan KKT menggunakan silika gel GF₂₅₄ (*n*-heksana-kloroform-aseton = 1,5:6:2,5) menghasilkan senyawa aktif **2** (5,5 mg).

2.4 Data Hasil Percobaan

Senyawa aktif (**1**) diperoleh sebagai minyak berwarna kuning, t.l. 118-122 °C, Spektrum UV λ_{maks} (EtOH) nm (e) 283 (4600), 230 (24000); Spektrum FT-IR (pellet KBr) ν_{maks} : 3059, 2924, 1682, 1510, 1254, dan 753 cm^{-1} . Spektrum ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ_H ppm : 2,17 (1H, *dd*, $J=13,1$; 11,6 Hz, H-4a); 2,52 (1H, *m*, H-7a); 2,62 (1H, *dd*, $J=11,6$; 5,2 Hz, H-4b); 2,65 (1H, *m*, H-11a), 2,70 (1H, *m*, H-7b); 2,82 (1H, *dt*, $J=9,2$; 7,3 Hz, H-8a); 3,02 (1H, *m*, H-8b); 3,08 (1H, *m*, H-11b); 3,22 (1H, *dd*, $J=14,6$; 6,7 Hz, H-10a); 3,49 (1H, *m*, H-10b); 3,50 (3H, *s*, OMe-3); 3,77 (3H, *s*, OMe-16); 3,78 (3H, *s*, OMe-15); 4,04 (1H, *dd*, $J=13,1$; 5,2 Hz, H-3); 6,12 (1H, *dd*, $J=2,1$; 1,5 Hz, H-1); 6,54 (1H, *s*, H-14); 6,68 (1H, *s*, H-17); Spektrum ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) 120,93 (CH-1); 197,74 (C-2); 77,08 (CH-3); 42,58 (CH₂-4); 64,35 (C-5); 168,29 (C-6); 28,56 (CH₂-7); 45,87 (C-8); 39,87 (CH₂-10), 21,35 (CH₂-11); 124,61 (C-12); 125,97 (C-13); 109,78 (CH-14); 146,55 (C-15); 146,93 (C-16); 112,96 (CH-17); 55,85 (OMe-3); 56,14 (OMe-16); 58,52 (OMe-15).

Senyawa aktif (**2**) diperoleh sebagai kristal jarum tak berwarna, t.l. 255-257 °C, Spektrum FT-IR (pellet KBr) ν_{maks} : 3393, 2946, 1660, 1463, 1385, 1338, 1082, 1040, dan 757 cm^{-1} . Spektrum ¹H NMR (400 MHz, piridin-*d*₅), δ_H ppm : 1,92 (*td*; $J = 13,6$; 4,3 Hz; 1H-1); 1,16 (*dd*; $J = 13,6$; 4,3 Hz; 1H-1); 1,76 (*dd*; $J = 13,6$; 6,8 Hz; 1H-2); 2,40 (*m*;

1H-2); 3,63 (1H-3); 1,04 (*m*; 1H-5); 1,45 (*td*; $J = 12,8$; 3,3 Hz; 1H-6); 1,36 (*m*; 1H-6); 1,73 (*d*; $J = 11,6$ Hz; 1H-7); 1,48 (*dd*; $J = 8,4$; 3,3 Hz; 1H-7); 1,63 (*d*; $J = 10,8$ Hz; 1H-9); 4,52 (*d*; $J = 10,8$ Hz; 1H-11); 5,34 (*s*; 1H-12); 1,82 (*d*; $J = 4,0$ Hz; H-15); 2,24 (*m*; 1H-15); 2,20 (*d*; $J = 10,0$ Hz; 1H-16); 1,66 (*d*; $J = 10,0$ Hz; 1H-16); 1,94 (*m*; 1H-18); 1,86 (*br s*; 1H-19); 1,33 (*m*; 1H-19); 1,60 (*m*; 1H-21); 1,54 (*m*; 1H-21); 1,86 (*m*; 1H-22); 2,06 (*m*; 1H-22); 3H-23); 1,10 (*s*; 3H-24); 1,23 (*s*; 3H-25); 1,29 (*s*; 3H-26); 1,56 (*s*; 3H-27); 3,64 (*d*., 11,0 Hz; 1H-28); 3,72 (*d*; 11,0 Hz; 1H-28); 0,95 (*s*; 3H-29); dan 0,98 (*s*; 3H-30) Spektrum ¹³C NMR (125 MHz, piridin-*d*₅) 40,06 (CH₂-1); 28,67 (CH₂-2); 80,13 (CH-3); 43,22 (C-4); 56,37 (CH-5); 19,14 (CH₂-6); 33,54 (CH₂-7); 42,38 (C-8); 48,15 (CH-9), 33,54 (C-10); 75,56 (CH-11); 122,44 (CH-12); 144,85 (C-13); 42,22 (C-14); 25,74 (CH₂-15); 28,46 (CH₂-16); 33,35 (C-17); 46,83 (CH-18); 45,35 (CH-19); 28,46 (C-20); 37,04 (CH₂-21); 38,04 (CH₂-22); 37,04 (CH₃-23); 16,28 (CH₃-24); 21,21 (CH₃-25); 17,09; (CH₃-26); 26,09 (CH₃-27); 64,61 (CH₂-28); 30,91 (CH₃-29); dan 23,60 (CH₃-30).

2.5 Evaluasi Aktivitas Paralitik

Larva ulat sutera yang akan digunakan untuk uji hayati di letakkan pada makanan buatan yang dibeli dari Nippon Nosan Kogyo Co., Ltd. Terhadap 1 gram makanan buatan, 100 μ l ekstrak metanol atau jumlah tertentu dari sampel yang akan diuji di tambahkan pada cawan petri. Setelah pelarutnya diuapkan lima ekor larva ulat sutera intar ketiga di letakkan pada cawan petri tersebut, dan laju paralitik diamati setelah 1, 6, dan 24 jam pada temperature 25°C setelah perlakuan awal (Hayashi *et al.*, 1989).

2.6 Evaluasi Aktivitas Antimalaria

Isolat beku *P. falciparum* galur FCR-3/A2 dibiakan pada medium RPMI-1640 (Roswel Park Memorial Institute-1640) yang diperkaya dengan larutan dapar HEPES; pH 7,4 dan 10% serum darah manusia. Pemiakan dilakukan pada cawan petri 24 sumur dan disimpan di dalam *candle jar*

pada inkubator yang bersuhu 37°C. Kemampuan menghambat pertumbuhan parasit diamati dan dihitung dibawah mikroskop. Selanjutnya dianalisis statistik untuk memperoleh aktivitas penghambatan (IC₅₀) komponen antimalaria.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak metanol pekat biji *E. variegata* dipartisi antara diklorometana dan air. Ekstrak diklorometana yang telah diasamkan, selanjutnya dibasakan dan kemudian dipisahkan melalui kombinasi kromatografi kolom menggunakan silika gel G 60 dan TLC preparatif silika gel GF₂₅₄ menghasilkan senyawa aktif (**1**). Senyawa **1** menunjukkan rumus molekul C₁₉H₂₃NO₄ berdasarkan data ¹H- dan ¹³C-NMR, menunjukkan bahwa **1** mempunyai sembilan ekivalensi ikatan rangkap. Spektrum UV menunjukkan serapan enon dan aril pada 230 (ε 24000) dan 283 nm (ε 4600). Spektrum inframerah menunjukkan adanya serapan cincin aromatik pada (3059, 1560, dan 753 cm⁻¹) dan gugus karbonil α,β-takjenuh pada (1682 cm⁻¹). Spektrum ¹H-NMR menunjukkan adanya α-proton dari keton α,β-takjenuh pada [d_H 6,12 (1H, t, J=2,1 Hz)] dan cincin benzen 1,2,4,5-tetrasubstitusi pada [d_H 6,54 (1H, s) dan 6,68 (1H, s)]; menunjukkan **1** sebagai struktur tetrasiklik. Spektrum ¹H-NMR menunjukkan adanya tiga gugus metoksi pada [δ_H 3,50 (3H, s); 3,77 (3H, s); 3,78 (3H, s)]. Berdasarkan data-data spektra di atas dan data-data spektra yang telah diperoleh pada penelitian sebelumnya serta pendekatan biogenetik tentang keberadaan senyawa golongan alkaloid eritrina pada marga *Erythrina*, maka senyawa **1** (Gambar 1) ditetapkan sebagai eritratidinon (Supratman., *et al.*, 2000). Aktivitas biologis senyawa **1** diperiksa terhadap instar ketiga ulat sutera. Pada metode oral, senyawa **1** menunjukkan paralysis dengan harga ED₅₀ 15 µg/g diet.

Ekstrak metanol pekat daun *E. variegata* dipartisi antara diklorometana dan air. Ekstrak diklorometana dipartisi lebih lanjut dengan *n*-heksan, etilasetat, dan *n*-butanol. Fraksi etilasetat kemudian dipisahkan melalui kombinasi kromatografi

kolom menggunakan silika gel G 60 dan TLC preparatif silika gel GF₂₅₄ menghasilkan senyawa aktif (**2**).

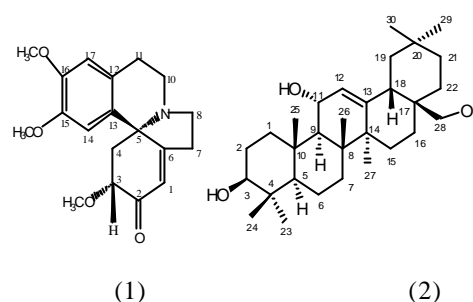
Senyawa aktif (**2**) menunjukkan rumus molekul C₃₀H₅₀O₃ berdasarkan data ¹H- dan ¹³C-NMR, menunjukkan bahwa senyawa aktif mempunyai enam ekivalensi ikatan rangkap. Spektrum inframerah menunjukkan adanya serapan yang kuat pada bilangan gelombang ν_{maks} 3393 cm⁻¹ dari regangan ulur gugus O-H, diikuti dengan serapan pada bilangan gelombang ν_{maks} 1092 dan 1040 cm⁻¹ berturut-turut yang merupakan regangan ulur dari gugus C-O alkohol sekunder dan alkohol primer. Pada bilangan gelombang ν_{maks} 2946 cm⁻¹ terdapat serapan yang sangat kuat dari regangan ulur gugus C-H alifatik dari CH₂ diikuti dengan serapan pada ν_{maks} 1463 cm⁻¹ yang merupakan tekukan C-H alifatik dari CH₂ dan 1385 cm⁻¹ tekukan C-H alifatik dari CH₃ yang khas untuk golongan triterpenoid (Mathias, *et al.*, 2000). Pada bilangan gelombang ν_{maks} 1660 cm⁻¹ terdapat regangan ulur C=C alifatik dengan intensitas lemah diikuti serapan pada bilangan gelombang pada ν_{maks} 757 cm⁻¹ dengan intensitas kuat dan tajam yang merupakan karakteristik dari tekukan ke dalam bidang gugus C-H rangkap dua (=C-H) siklik. Data-data spektrum pada bilangan gelombang ν_{maks} 1660 dan 758 cm⁻¹ tersebut mengindikasikan suatu senyawa dari golongan triterpenoid yang mengandung sebuah ikatan rangkap dua pada posisi 12 (13) dalam kerangka senyawa triterpen pentasiklik 12-en). Spektrum ¹H-NMR menunjukkan adanya 7 signal singlet dari gugus metilen (CH₂) tersier pada geseran kimia d_H 1,24 (3H-23); 1,10 (3H-24); 1,23 (3H-25); 1,29 (3H-26); 1,56 (3H-27); 0,95 (3H-29); dan 0,98 (3H-30). Hasil perhitungan tetapan penjodohan proton-proton diketahui bahwa nilai tetapan penjodohan antara proton C-11 (H-11) pada geseran kimia d_H 4,52 (*d*; J = 10,8 Hz; 1H) yang teroksidasi dan proton C-9 (H-9) pada geseran kimia d_H 1,63 (*d*; J = 10,8 Hz; 1H); diduga terjadinya penjodohan aksial, sehingga dapat dinyatakan bahwa posisi proton pada C-11 adalah aksial (H-11β) dan posisi gugus hidroksil pada C-11 adalah ekuatorial (11a-OH). Posisi ekuatorial gugus

hidroksi pada C-3 (H-3 aksial) telah dibuktikan dengan membandingkan geseran kimia gugus C-1 (d_c 40,06; 2H), C-2 (d_c 28,67; 2H), C-3 (d_c 80,13; H), C-4 (d_c 43,22), C-5 (d_c 56,37; H), dan C-24 (d_c 16,28; 3H). Spektrum ^1H NMR juga memperlihatkan adanya penjodohan geminal pada geseran kimia d_H 1,92 triplet doublet ($J = 13,6; 4,3$; 1H-1) dengan proton pada d_H 1,16 doublet doublet ($J = 13,6; 4,3$; 1H-1) yang mengalami penjodohan visinal dengan proton pada geseran kimia d_H 1,76 doublet doublet ($J = 13,6; 6,8$ Hz; 1H-2) dan proton pada geseran kimia d_H 1,45 triplet doublet ($J = 12,8; 3,3$ Hz; 1H-6) yang mengalami penjodohan visinal dengan proton pada geseran kimia d_H 1,48 doublet doublet ($J = 8,4; 3,3$ Hz; 1H-7), yang merupakan karakteristik dari proton yang berada pada cincin A dan B senyawa triterpenoid. Spektrum ^{13}C -NMR memperlihatkan adanya 30 signal yang terdiri dari 28 atom karbon sp^3 dan 2 atom karbon sp^2 .

Dari ke-30 signal tersebut, terdapat 7 atom karbon metilen, 10 atom karbon etilen, 6 atom karbon metin dan 7 atom karbon kuartener. Tujuh atom karbon kuartener pada senyawa merupakan karakteristik untuk kelompok senyawa triterpenoid dengan kerangka struktur pentasiklik (Nakanisi, *et al.*, 1974). Diantara ke-30 signal tersebut terdapat tiga atom karbon teroksigenasi pada geseran kimia d_c 80,13 (C-3), 75,56 (C-11) dan 64,61 (C-28) dan satu pasang atom karbon rangkap dua pada geseran kimia d_c 122,44 (C-12) dan 144,85 (C-13) yang khas untuk atom karbon-12 (13) senyawa triterpen pentasiklik golongan olean. Berdasarkan data-data spektra di atas dan data-data yang telah diperoleh pada penelitian sebelumnya (Mathias, *et al.*, 2000; Debella, *et al.*, 2000; Barreiros, *et al.*, 2002; dan Okada, *et al.*, 2003) struktur planar dari senyawa aktif ditetapkan sebagai triterpen pentasiklik 3 β -11 α -28-trihidroksi-olean-12-en (Gambar 1). Aktivitas biologis senyawa 3 β -11 α -28-trihidroksi-olean-12-en memperlihatkan nilai IC_{50} 0,243 $\mu\text{g}/\text{mL}$ terhadap pertumbuhan *P. falciparum* secara *in vitro*.

4. KESIMPULAN

Alkaloid eritrina, eritroidina yang diisolasi dari biji *E. variegata* memperlihatkan aktivitas paralitik terhadap instar ketiga ulat sutera (*Bombyx mori*) dengan nilai ED_{50} 15 $\mu\text{g}/\text{g}$ diet. Sedangkan, Triterpen pentasiklik, 3 β -11 α -28-trihidroksi-olean-12-en yang diisolasi dari daun *E. variegata* memperlihatkan nilai IC_{50} 0,243 $\mu\text{g}/\text{mL}$ terhadap pertumbuhan *P. falciparum* secara *in vitro*.



Gambar 1. Senyawa eritratidinon (1) dan 3 β -11 α -28-trihidroksi-olean-12-en (2)

Ucapan Terima Kasih

- Penulis mengucapkan terima kasih kepada :
1. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi atas dana yang diberikan melalui Hibah Penelitian Tim Pascasarjana (Hibah Pasca) Tahun Anggaran 2004.
 2. Dr. Tomoyuki Fujita dan Dr. Kohki Akiyama pada Laboratory of Natural Products Chemistry, Division of Applied Biological Chemistry, Graduate School of Agriculture and Life Sciences, Osaka Prefecture University, Osaka, Japan atas pengukuran spektra NMR.
 3. Lembaga Eijkman, Jakarta atas pengujian aktivitas biologis.

DAFTAR PUSTAKA

- Atamini, F., 2001, *Tiga senyawa baru cassane-furano diterpen hasil isolasi dari daging biji Bogore (Caesalpinia erista L.), asal Sulawesi Selatan sebagai bahan dasar obat antima-laria. Sci. & Tech.*, vol. 2, 1, 12-24.

- Barreiror, M.L., David, J.M., Pereira, P.A., Maria L.S. and David J.P., 2002, *The fatty acid esters of triterpenes from Erythroxylum passerium*. **J. Braz. Chem. Soc.**, vol.13, 5, 387-399.
- Chawla, A.S., Krishnan, T.R., Jackson, A.H., Scalabrin, D.A. and Stuttgart, W.G., 1988, *Alkaloidal constituents of Erythrina variegata bark*, **Planta medica**. vol. 54, 6, 526-528.
- Debella, A., Haslinger, E., Martin, G.S., Bucar, F., Abebe, D. And Kunert, O., 2000, *Triterpenoid saponins and saponin lactones from Albizia gummifera*, **Phytochemistry**, vol. 53, 885-892.
- DepKes, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Jakarta, 2000, 10-11.
- Hayashi, H., Takiuchi, K., Murao, S., and Arai, M., 1989, *Structure and insecticidal activity of new indole alkaloids, okaramines A and B, from Penicillium simplicissum AK-40*. **Agric. Biol. Chem.**, 53, 461-469.
- Heyne, K. 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid II*, Balai Kehutanan Indonesia.
- Mathias, L., Ivo, J.C., Vieira, R.B. and Edson, R.F., 2000, *A New pentacyclic triterpene isolated from Myroxylon balsamum (syn. Myroxylon peruiferum)*, **J. Braz. Chem. Soc.** 11, 2, 195-198.
- Mursito, B., 2002, *Ramuan Tradisional untuk Penyakit Malaria*, Cetakan Pertama, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Nakanisi, K., Toshiro, G., Ito, S., Natori, S. and Shigeo, N, 1974, **Natural Product Chemistry**, 1.
- Okada, Y., Ayako, M. and Toru, O., 2003, *A new triterpenoid isolated from Lagerstro-nemia speciosa (L.)* **Pers. Chem. Pharm. Bull**, 51, 4, 452-454.
- Sato, M., Tanaka, H., Fujiwara, S., Hirata, M., Yamaguchi, R., Etoh, H., and Tokuda, C., 2003, *Antibacterial property of isoflavonoids isolated from Erythrina variegata against cariogenic oral Bacteria*, **Phytomedicine**, 10, 5, 427-433.
- Supratman, U., Fujita, T., and Hayashi, H., 2000, *Erythrina alkaloids from the leaves of Erythrina subumbrans (Leguminosae)*, **Applied Biological Science**, 6, 7-16.
- Supriyatna, Unang Supratman dan Anas Subarnas, 2004, *Senyawa Bioaktif Alami dari Beberapa Tumbuhan Erythrina Indonesia dan Pemanfaatannya di Bidang Kesehatan dan Pertanian*. Hibah Penelitian Tim Pascasarjana-HPTP (Hibah Pasca), Dikti Depdikbud.
- Tanaka, H., Etoh, H., Shimizu, H., Makita, T. and Tateishi Y., 2000, *Two new isoflavonoids from Erythrina variegata*, **Planta Med.** 66, 6, 578-579.