

PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70% DAUN JUSTICIA GENDARUSSA BURM.F TERHADAP AKTIVITAS ENZIM REVERSE TRANSCRIPTASE HIV IN VITRO (Effect of ethanolic extract of Justicia gendarussa Burm.F against activity of reverse transcriptase HIV enzyme in vitro)

¹Bambang Prayogo, ^{2,3}Prihartini Widiyanti dan ^{1,4}Hafrizal Riza

¹Departemen Farmakognosi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga Surabaya

²Institute of Tropical Disease, Universitas Airlangga, Surabaya

³Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya

⁴Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Tanjungpura

Abstract

Research on the inhibitory activity of free and non-free alkaloids 70 % ethanolic extract of leaves of Justicia gendarussa Burm.f against HIV reverse transcriptase enzyme has been reported. The aim of the research was to find a solution to face the high prevalency of HIV AIDS with its side effects, resistances problem and the mechanism of inhibition of HIV Reverse Transcriptase enzyme. Justicia gendarussa has already known to having an antiHIV effect, and that's why we are also looking the inhibition mechanism. Both types of extracts tested in vitro using Elisa technique and analyzed chemical content of Gendarusin A as antiHIV using high performance liquid chromatography. Elisa test results obtained percent inhibition, respectively 48.23, 35.10, 35.35, 27.78 and 26.01 for the concentration of 250 ppm, 125 ppm, 62.5 ppm, 31.25 ppm and 15.63 ppm of non alkaloids-free extract and 48.74, 48.48, 40.40, 32.83 and 30.56 for the concentration of 250 ppm, 125 ppm, 62.5 ppm, 31.25 ppm and 15.63 ppm are alkaloid-free extract. The IC₅₀ of non alkaloids-free extract and alkaloid-free extract respectively are 393.02 ppm and 220,98 ppm. Both type of extract inhibit activity of HIV Reverse Transcriptase uncompetitively. The results high performance liquid chromatography obtained Gendarusin A in the non alkaloid-free extract are 3.54 % and alkaloid-free extract are 2.30 %. Therefore, these results conclude that the Justicia gendarussa Burm.f can be a useful source for the isolation and development of new inhibitors antiHIV .

Keyword : *Justicia gandarussa, ekstrak 70% ethanol, free and non free alkaloid, reverse transcriptase, anti-HIV*

Abstrak

Penelitian tentang aktivitas inhibisi terhadap enzim Reverse Transcriptase HIV ekstrak etanol 70% daun Justicia gendarussa Burm.f, yang bebas dan tidak bebas alkaloid, telah dilakukan. tujuan penelitian ini adalah menemukan solusi dalam menghadapi prevalensi HIV AIDS yang masih tinggi dengan kendala pengobatan HIV AIDS seperti efek samping dan resistensi. Justicia gendarussa sudah diketahui memiliki efek anti HIV AIDS seperti Intiretrov itu mekanisme penghambatannya pada virus HIV yaitu terhadap enzim Reverse Trabscriptase juga dilakukan. kedua jenis ekstrak diujikan secara in vitro menggunakan teknik Elisa dan dianalisis kandungan kimia Gebdarusin A yang memiliki efek antiHIV menggunakan

kromatografi cair kinerja tinggi. Dari hasil uji Elisa diperoleh persen penghambatan berturut-turut sebesar 48,23, 35,10, 35,35, 27,78 dan 26,01 untuk 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm, 31,25 ppm dan 15,63 ppm ekstrak bebas alkaloid. IC₅₀ untuk ekstrak tidak bebas alkaloid dan bebas alkaloid berturut-turut 392,02 ppm dan 220,98 ppm. kedua jenis ekstrak menghambat aktivitas enzim Reverse Transcriptase HIV secara tidak kompetitif. hasil kandungan kimia diperoleh Gendarusin A pada ekstrak tidak bebas alkaloid sebesar 3,54% dan ekstrak bebas alkaloid sebesar 2,30%. Karena itu, hasil ini menyimpulkan bahwa Justicia gendarussa Burm.f dapat menjadi sumber yang bermanfaat untuk isolasi dan pengembangan inhibitor baru antiHIV.

Kata kunci : *Justicia gandarussa, ekstrak 70% ethanol, bebas dan tidak bebas alkaloid, reverse transcriptase, anti-HIV*

PENDAHULUAN

Penyakit HIV-AIDS merupakan masalah global dan penyakit paling mematikan didunia. menurut laporan global WHO jumlah kematian akibat AIDS di dunia pada tahun 2009 mencapai 1,8 juta jiwa (1), sedangkan berdasarkan data dari kementerian RI, meskipun total kasus HIV dan AIDS secara nasional menurun dari tahun 2011 sebanyak 21,031 dan 4,162 menjadi 9,883 dan 2,224 ditahun 2012 namun angka ini masih tergolong tinggi (2). Disisi pengobatan, upaya medik dalam pelayanan pengobatan HIV AIDS masih menghadapi beberapa kendala. Permasalahan seperti penggunaan 3ntiretroviral dimana dosis dan jenis sangat dibatasi efek samping dari obat antiretroviral. Toksisitas dan efek samping sangat mempengaruhi kepatuhan pasien terhadap antiretroviral. selain itu penggunaan antiretroviral dewasa ini mengalami resistensi yang menyebabkan kegagalan terapi (3).

Salah satu strategi penanggulangan HIV dan AIDS dapat dilakukan dengan program penelitian obat tradisional dari bahan alam yang memiliki aktivitas anti HIV AIDS. Penelitian obat tradisional diarahkan untuk mencari bukti ilmiah tentang obat tradisional tersebut (4).

Bahan alam masih memegang peran penting pada siklus hidup HIV karena transkripsi baik merupakan tahap awal replikasi virus di dalam sel host. Semua protein dan enzim yang memegang peranan penting pada pembentukan virus baru tidak dibawah oleh virus namun memanfaatkan enzim dan protein dalam sel host (7), sedangkan enzim reverse transcriptase bersama dengan enzim

integrasi berasal dari virus yang masuk pada sel host pada tahap fusi (8). Karena itu pengembangan obat yang bekerja pada enzim reverse transcriptase akan langsung menghambat proses siklus berikutnya mulai dari transkripsi balik RNA virus menjadi DNA sel host, replikasi inti hingga pembentukan protein virus. Penghambatan pada tahap sesudah transkripsi masih memungkinkan menetapnya infeksi dalam sel host karena DNA virus dapat menetap lama bersama dengan DNA sel host. Karena itu penghambatan pada enzim reverse transcriptase dapat menurunkan infeksi virus HIV (7).

Saat ini sedang dikembangkan suatu obat anti HIV yang berasal dari tanaman obat yaitu *Justicia gendarussa* Burm.f. Penelitian yang telah dilakukan di antaranya menguji pengaruh ekstrak heksan metanol dan etanol tanaman obat *Justicia gendarussa* Burm.f. terhadap virus HIV in vitro diperoleh ekstrak metanol dan etanol 70% bebas alkaloid memberikan hasil penurunan jumlah virus (9). Bagian herba *Justicia gendarussa* Burm.f. adalah senyawa apigenin yaitu Gendarusin A. Beberapa kandungan senyawa ini baik komponen utama atau komponen minor dapat memberikan efek sinergis sebagai anti HIV melalui mekanisme yang sama ataupun berbeda (12). Karena itu penghambatan aktivitas enzim *Reverse Transcriptase* HIV menggunakan ekstrak etanol 70% bebas dan tidak bebas alkaloid.

METODELOGI PENELITIAN

Bahan

Daun *Justicia gendarussa* Burm.f. diperoleh dari tanaman budidaya di daerah Trawas, Mojokerto, Jawa Timur. Innovagen

RT Activity Kit diperoleh dari PT. Innovagen, Swedia. Bahan untuk ekstrak, uji alkaloid dan kandungan kimia yaitu 70%, diklorometana, methanol, aquades, asam sirsat, kertas saring, preaksi Dragendorff, Silika gel GF 254.

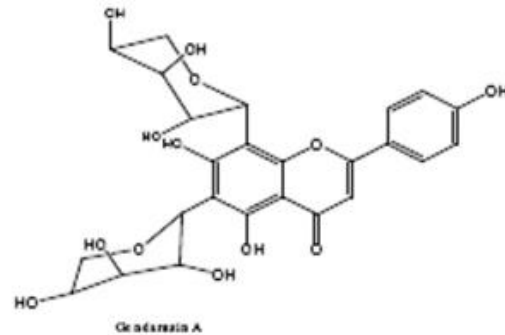
Seperangkat alat ekstraksi seperti masherator, oven mommert, evaporator buchi, ultrasonic Julabo usr 3, *iMark Microplate Absorbance Reader*, seperangkat alat HPLC : Agilent1100, Kolom reverse phase Novapak® C18 dengan ukuran 3,9x150 mm.

penelitian dilakukan di dua laboratorium yaitu laboratorium Farmakognosi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga dan Institute of Tropical Disease (Lembaga Penyakit Tropis) Universitas Airlangga.

Rancangan Penelitian

Simplisia daun *Justicia gendarussa* Burm.f. dibagi menjadi dua kelompok sampel. Kelompok pertama diasamkan untuk membebaskan alkaloid dan kelompok kedua tidak diasamkan. Kemudian kedua kelompok sampel dimaserasi dengan etanol 70% dan kemudian dipekatkan. Untuk memastikan bebas alkaloid maka kelompok pertama diuji bebas alkaloid menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dengan fase diam Silika Gel GF 254 dan fase gerak diklorometana: methanol, 9: 1 dengan preaksi semprot Dragendorff. Kedua macam sampel diujikan aktivitasnya dalam inhibisi aktivitas enzim Reverse Transcriptase HIV menggunakan Elisa dan ditentukan jenis inhibitorynya. kedua sampel juga dianalisa kandungan kimia untuk mengetahui kadar Gendarisin A yang berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa isolate apigenin memiliki aktivitas inhibisi

Reverse Transcriptase HIV. Kondisi yang digunakan dalam HPLC yaitu eluen methanol : air (30:70), aliran 1ml/menit, stop time 25 menit, panjang gelombang 254 nm.

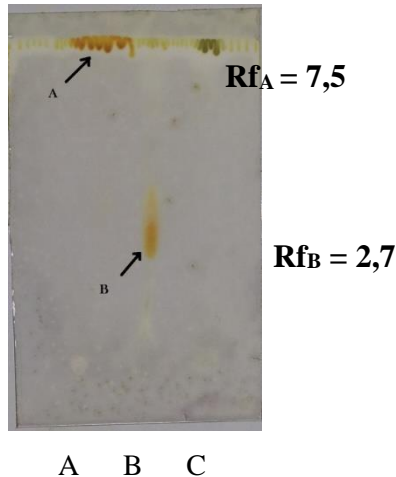


Gambar 1. Struktur gendaruisin A

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian, dilakukan uji untuk mengetahui aktivitas inhibisi ekstrak etanol 70% *Justicia gendarussa* Burm. f terhadap enzim *Reverse Transcriptase* HIV dan perbedaan pelakuan pengasaman untuk melihat pengaruh alkaloid inhibisi enzyme *Reverse Transcriptase* HIV dan perbedaan perlakuan pengasaman untuk melihat pengaruh alkaloid pada inhibisi enzyme *Reverse Transcriptase* HIV. Ekstraksi dilakukan dengan maserasi etanol 70% karena penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak ini mampu menurunkan jumlah kultur HIV *in vitro*.

Untuk memastikan kelompok pertama bebas alkaloid maka dilakukan uji bebas alkaloid dan diperoleh hasil kelompok pertama bebas alkaloid seperti ditunjukkan pada Gambar 2, noda A yaitu ekstrak bebas alkaloid tidak menunjukkan noda jingga merah seperti pada noda B dan noda C.



Gambar 2. Hasil uji bebas alkaloid, A (kontrol positif *Piper nigrum* L), B (noda ekstrak tidak bebas alkaloid), C (ekstrak bebas alkaloid), KLT silika GF 254 nm, diklorometan : metanol (9:1), pereaksi Dragendorff.

Untuk uji inhibisi aktivitas enzim *Reverse Transcriptase* HIV diperoleh dengan menggunakan rumus.

$$\text{Absorbansi S} = \text{Absorbansi BC} - \text{Absorbansi sampel}$$

$$\text{Persen Inhibisi} = \frac{(\text{Absorbansi S})}{\text{absorbansi Std}} \times 100$$

Keterangan : S = sampel (ekstrak)
 BC = Background control (dapar)
 Std = standar (substrat dan enzim tanpa ekstrak)

Tabel I dan II di bawah ini menunjukkan ekstrak tidak bebas alkaloid dan bebas alkaloid memiliki aktivitas penghambatan enzim *Reverse Transcriptase* HIV yang ditunjukkan dengan persen penghambatan.

Tabel 1. Persen penghambatan ekstrak etanol 70% tidak bebas alkaloid daun *Justicia gendarussa* Burm.f terhadap aktivitas enzim *Reverse Transcriptase* HIV, n=3

Konsentrasi (ppm)	OD rata2±SD	%Inhibisi
A1	0.040 ± 0,0081	48,23
A2	0,058 ± 0,0056	35,10
A3	0,057 ± 0,0030	35,35
A4	0,067 ± 0,0142	27,78
A5	0,070 ± 0,0090	26,01
K+	0.048 ± 0,0000	77,27
K-	0.067 ± 0.0110	-
BC	0.104 ± 0.0140	-

Keterangan :

- A1 : ekstrak etanol 70% tidak bebas alkaloid daun *J. gendarussa* 250 ppm
- A2 : ekstrak etanol 70% tidak bebas alkaloid daun *J. gendarussa* 125 ppm
- A3 : ekstrak etanol 70% tidak bebas alkaloid daun *J. gendarussa* 62.5 ppm
- A4 : ekstrak etanol 70% tidak bebas alkaloid daun *J. gendarussa* 31.25 ppm
- A5 : ekstrak etanol 70% tidak bebas alkaloid daun *J. gendarussa* 15.63 ppm
- K+ : Doksorubisin 100 ppm
- K- : kontrol negatif tersedia dalam kit
- BC : Background control (dapar)

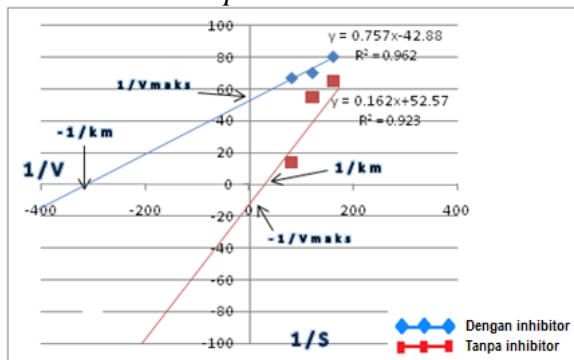
Tabel II. Persen penghambatan ekstrak etanol 70% bebas alkaloid daun *Justicia gendarussa* Burm.f terhadap aktivitas enzim *Reverse Transcriptase* HIV, n=3

Konsentrasi (ppm)	OD rata2 ± SD	%Inhibisi
B1	0.040 ± 0,0119	48,74
B2	0,040 ± 0,0112	48,48
B3	0,050 ± 0,0133	40,40
B4	0,060 ± 0,0225	32,83
B5	0,064 ± 0,0117	30,56
K+	0.048 ± 0,0000	77,27
K-	0.067 ± 0.0110	-
BC	0.104 ± 0.0140	-

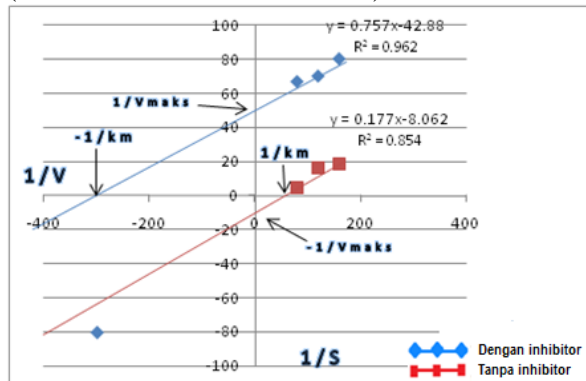
Keterangan :

- B1 : ekstrak etanol 70% bebas alkaloid daun *J. gendarussa* 250 ppm
- B2 : ekstrak etanol 70% bebas alkaloid daun *J. gendarussa* 125 ppm
- B3 : ekstrak etanol 70% bebas alkaloid daun *J. gendarussa* 62.5 ppm
- B4 : ekstrak etanol 70% bebas alkaloid daun *J. gendarussa* 31.25 ppm
- B5 : ekstrak etanol 70% bebas alkaloid daun *J. gendarussa* 15.63 ppm
- K+ : Doksorubisin 100 ppm
- K- : Kontrol negatif tersedia dalam kit
- BC : *Background control* (dapar)

Gambar 3 dan 4 di bawah ini menunjukkan jenis penghambatan ekstrak etanol 70% tidak bebas dan bebas alkaloid daun *Justicia gendarussa* Burm.f terhadap aktivitas enzim *Reverse Transcriptase* HIV.

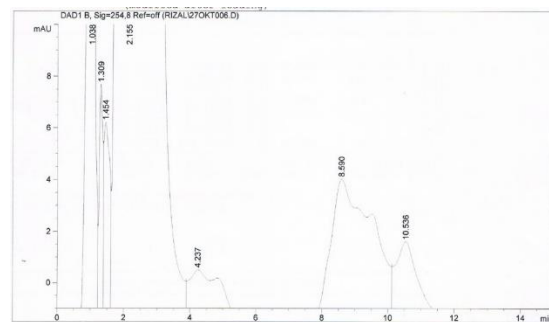


Gambar 3. Kinetika penghambatan enzim RT HIV oleh ekstrak etanol 70% daun *J.gendarussa* tidak bebas alkaloid, inhibitor (ekstrak tidak bebas alkaloid).

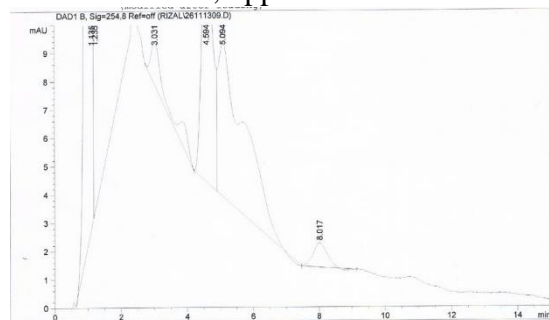


Gambar 4. Kinetika penghambatan enzim RT HIV oleh ekstrak etanol 70% daun *J.gendarussa* bebas alkaloid, inhibitor (ekstrak bebas alkaloid).

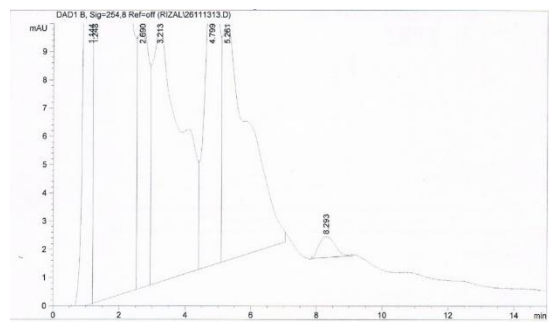
Untuk analisa kandungan kimia Gendarusin A diperoleh 3.54 % untuk ekstrak tidak bebas alkaloid dan 2,30 % untuk ekstrak tidak bebas alkaloid. Gambar 6 dan gambar 7 merupakan kromatogram ekstrak tidak bebas alkaloid dan bebas alkaloid dari ekstrak etanol 70 % daun *Justicia gendarussa* Burm.f dibandingkan dengan standar Gendarusin A 9,6 ppm ditunjukkan pada gambar 5.



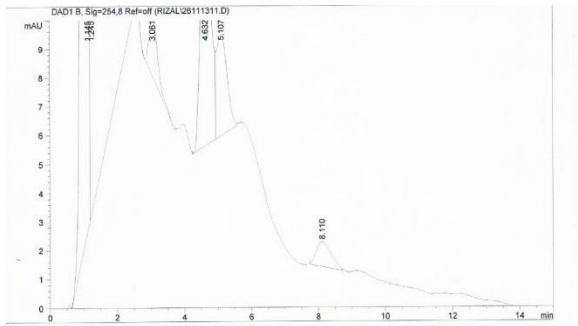
Gambar 5. Kromatogram Standar Gendarusin A 9,6 ppm



(a)

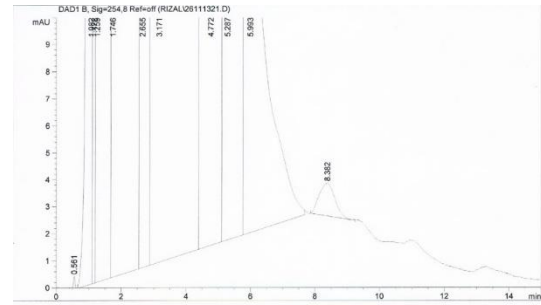


(b)



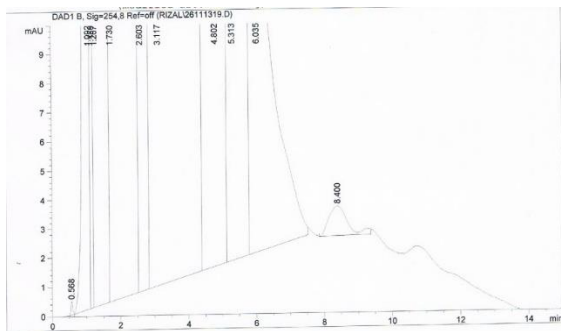
(c)

Gambar 6. Kromatogram ekstrak etanol 70% tidak bebas alkaloid daun *J. gendarussa*, replikasi 3 kali (a,b,c), reverse phase Nova-pak® C18 3,9x150 mm, metanol : air (30:70), 1 ml/menit.

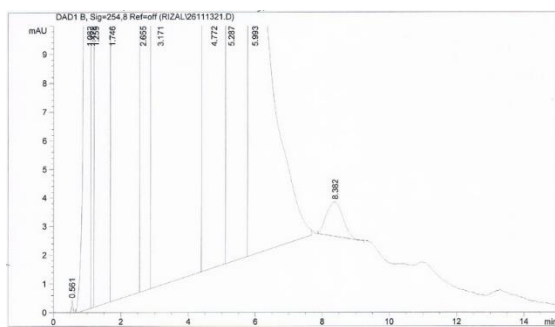


(c)

Gambar 7. Kromatogram ekstrak etanol 70% bebas alkaloid daun *J. gendarussa*, replikasi 3 kali (a,b,c), reverse phase Nova-pak® C18 3,9x150 mm, metanol : air (30:70), 1 ml/menit.



(a)



(b)

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% daun *Justicia gendarussa* Burm.f bebas dan tidak bebas alkaloid memiliki aktivitas penghambatan enzim Reverse Transcriptase HIV.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization, *Global Summary of The HIV AIDS Epidemic, on December 2009*, (online), (http://www.who.int/hiv/data/2009_global_summary.png, diakses 10 November 2011), 2009.
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, *Laporan Situasi Perkembangan HIV&AIDS di Indonesia sampai dengan Juni 2011*, (online), (<http://www.aidsindonesia.or.id/download/LT2Menkes2011.pdf>, diakses 13 November 2011), 2011.
3. Flexner C, HIV Drug Development: The Next 25 Years, *Natural Review Drug Discovery*, Vol 6, pp.959-966, 2007.
4. Komisi Penanggulangan AIDS, *Strategi Nasional Penanggulangan HIV dan AIDS 2007-2010*, (online), (<http://www.undp.or.id/programme/pro-poor/The%20National%20HIV%20&%20>

AIDS%20Strategy%2020072010%20%28Indonesia%29.pdf, diakses 3 November 2011), 2007.

5. Feher M, and Schmidt J.M, Property Distributions: Differences Between Drugs, Natural Products, And Molecules From Combinatorial Chemistry, Journal of Chemical Information and Computer Science, Vol 43, pp.218-227, 2003.
6. Newman D.J, and Cragg G.M, Natural Products As Sources Of New Drugs Over The Last 25 Years, Journal of Natural Product.,Vol 70, pp.461-477, 2007.
7. Casiday, R., and Frey, R., Drug Strategies to Target HIV: Enzyme Kinetics and Enzyme Inhibitors, Department of Chemistry, Washington University, 2001.
8. Pommier Y, Johnson A.A, and Marchand C, Integrase Inhibitors to Treat HIV/AIDS, Nature Review: Drug Discovery, Vol 4, pp.236-248, 2005.
9. Yuliangkara B, Prajogo B.EW, dan Widiyanti P, Pengaruh Ekstrak Heksan, Metanol, dan Etanol Tanaman Obat Justicia gendarussa Burm.f terhadap Virus HIV In Vitro, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya, 2010.
10. Woradulayapinij W, Soonthornchareonnon N, and Wiwat C, In vitro HIV Type 1 Reverse transcriptase Inhibitory Activity of Thai Medicinal Plants and *Canna indica* L. rizhomes, Journal of Ethnopharmacology, Vol 101, pp.84-89, 2005.
11. Yeon-Ju K, Hyun-Jeong O, Hyo-Min A, Ho-Jung Kang, Jung-Hyun K, and Young-Hwan K, Flavonoids as Potential Inhibitors of Retroviral Enzymes, Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, Vol 52, pp.321-326, 2009.
12. Gilbert B, and Alves L.F, Synergy in Plant Medicine, Current Medical Chemistry, Vol 10, pp.13-20, 2003.

