

BIDANG KESEHATAN

TAHUN ANGGARAN 2009



JUDUL PENELITIAN

Aktivitas Penghambatan Reverse Transcriptase HIV tipe 1  
Tanaman Obat *Justicia gendarussa* Burm., f

OLEH :

**DR. BAMBANG PRAJOGO, EW., MS**

**DR. NASRONUDIN, DR., SP.PD-KPTI**

**PROF. NOOR CHOLIES ZAINI, MS**

**NENY PURWITASARI, S.FARM, APT**

FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

2009

**BIDANG KESEHATAN**

KKB  
KK-2  
LP. III / 10  
Pra  
a

**TAHUN ANGGARAN 2009**



MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

JUDUL PENELITIAN

**Aktivitas Penghambatan Reverse Transcriptase HIV tipe 1  
Tanaman Obat *Justicia gendarussa* Burm., f**

OLEH :

**DR. BAMBANG PRAJOGO, EW., MS**

**DR. NASRONUDIN, DR., SP.PD-KPTI**

**PROF. NOOR CHOLIES ZAINI, MS**

**NENY PURWITASARI, S.FARM, APT**

FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

**2009**

**b. Halaman Pengesahan**

1. Judul Penelitian :

**Aktivitas Penghambatan reverse transcriptase type 1 HIV Tanaman Obat *Justicia gendarussa*.**

2. Ketua Peneliti

- a. Nama Lengkap : Dr. Bambang Prajogo, E.W, MS
- b. Jenis Kelamin : Laki-laki
- c. NIP : 131470993
- d. Jabatan Struktural : -
- e. Jabatan fungsional : Lektor Kepala
- f. Fakultas/Jurusan : Farmasi Universitas Airlangga
- g. Pusat Penelitian : -
- h. Alamat : Jl. Dharmawangsa Dalam Selatan
- i. Telpon/Faks : 031 5033710/ 031 5020514
- j. Alamat Rumah :
- k. Telpon/Faks/E-mail : [prajogo\\_ew@hotmail.com](mailto:prajogo_ew@hotmail.com)

3. Jangka Waktu Penelitian: 1 tahun

4. Pembiayaan

- a. Jumlah biaya yang diajukan : Rp 88.700.000,-
- b. Jumlah biaya dari sumber pembiayaan lain : Rp -

Surabaya, 13 Nopember 2009  
Ketua Peneliti,

Mengetahui  
Dekan

Prof. Dr. Achmad Sjahrani, MS., Apt  
NIP : 19540104 198002 1 001

Dr. Bambang Prajogo, E.W, MS., Apt  
NIP: 19561217 198503 1 004



Menyetujui :  
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Unair,

Prof. Dr. Bambang Sektiari Lukiswanto, DEA., drh.  
NIP 131 837 004

**1. IDENTITAS PENELITIAN**

1. Judul :

**Aktivitas Penghambatan reverse transcriptase type 1 HIV Tanaman Obat *Justicia gendarussa*.**

2. Ketua Peneliti

- a. Nama Lengkap : **Dr. Bambang Prajogo, EW, MS**  
 b. Bidang Keahlian : **Farmakognosi-Fitokimia**  
 c. Jabatan Struktural : **-**  
 d. Jabatan Fungsional : **Lektor Kepala**  
 e. Unit Kerja : **Fakultas Farmasi Universitas Airlangga**  
 f. Alamat Surat : **Fakultas Farmasi, Jl.Dharmawangsa dalam, Surabaya**  
 g. Telpun / fax : **5995246 / 5995346**  
 h. R-mail : **prajogo\_ew@hotmail.com**

3. Anggota Peneliti

No	Nama dan gelar akademik	Bidang Keahlian	Instansi	Alokasi waktu (jam/minggu)
1	DR. NASRONUDIN, SP.PD-KPTI	Kedokteran	Fakultas Kedokteran	15
2	Prof. Dr. Noor Cholies Z, MS	Fitokimia	Fakultas Farmasi	15
3	Neny Purwitasari, S.Farm, Apt	Botani- Farmakognosi	Fakultas Farmasi	15

4. Objek Penelitian : **Aktivitas Penghambatan reverse transcriptase type 1 HIV Tanaman Obat *Justicia gendarussa*.**

5. Masa pelaksanaan Penelitian

Mulai : **Maret 2009** berakhir **Desember tahun 2009**6. Anggaran yang diusulkan : **Rp.88.700.000,-**7. Lokasi Penelitian : **Fakultas Farmasi Universitas Airlangga dan Laboratorium Kimia Bahan Alam (Fitokimia), Dept. Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga**

**8. Hasil yang ditargetkan :**

**(1) Diperoleh senyawa protein dari tanaman obat Indonesia, (*Justicia gendarusa*) yang memiliki khasiat anti-HIV yang poten (2). Publikasi hasil penelitian di jurnal ilmiah baik nasional dan internasional terakreditasi (3). Peningkatan temuan senyawa aktif anti-HIV dari sumber daya hayati Indonesia (4). HAKI (paten)**

**9. Instansi lain yang terlibat : Kimia Terapan, Kedokteran**

## KATA PENGANTAR

Kami panjatkan puji syukur kehadiran Allah Subhanallah wa ta'ala atas segala hidayah, rahmat dan ridho-Nya pekerjaan penelitian Stategi Nasional Batch II 2009 selesai sampai laporan akhir

Pada kesempatan yang berbahagia ini kami menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Menteri Pendidikan Nasional melalui Direktorat Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat (DP2M) Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, yang mempercayakan pelaksanaan penelitian ini kepada kami dan memfasilitasi dana dengan tepat waktu.
2. Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat Universitas Airlangga yang telah mengkoordinir sejak pengumpulan proposal sampai dengan pelaksanaan seminar akhir dan pengumpulan laporan sekaligus penyaluran dana selama penelitian.
3. Dekan Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas serta sarana untuk melaksanakan penelitian.
4. Direktur Institut Penyakit Tropis, Universitas Airlangga yang telah memberi fasilitas pengujian anti-HIV
5. Staf Departmen Farmakognosi dan Fitokimia yang telah membantu dalam penelitian ini
6. Semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu-persatu termasuk para teknisi laboratorium yang telah menunjang kelancaran dan keberhasilan penelitian ini.

Rasa terimakasih ini kami sertai doa kepala Allah SWT semoga amal dan budi baik serta jerih payah selama ini memperoleh manfaat yang sebanyak-banyaknya baik bagi diri kami sendiri maupun bagi keluarga besar Fakultas Farmasi Universitas Airlangga dan masyarakat pada umumnya.

Surabaya, Nopember 2009

Penyusun

### Abstrak

Telah dilakukan skrining beberapa ekstrak dari daun *Justicia gendarussa* Burm.f untuk melihat tingkat pertumbuhan virus dari plasma darah pasien HIV RSUD Dr Soetomo. Telah diketahui bahwa *J.gendarussa* menghambat *reverse transcriptase* HIV tipe 1, disamping itu kandungan utamanya adalah gendarusin A.

Pada awal dilakukan ekstraksi dan fraksinasi dengan 3 model yang menonjolkan pelarut metanol absolut, metanol 70% dan etanol 70% dengan pembebasan alkaloid. Selanjutnya sampel masing-masing fraksi diinkubasikan pada plasma pasien HIV dengan titer tinggi selama 1 jam dengan kadar 10, 25 50 dan 100 ppm. Setelah inkubasi dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan *Cobas Amplicor mechine* merupakan gabungan PCR dan Elisa sehingga menghindari kontak langsung dengan virus yang sangat patogen.

Hasil yang diperoleh bahwa urutan aktivitas dari yang paling poten menuju yang lemah antara lain fraksi EtOH 70% > MeOH abs > Meoh 70 %, masing-masing dengan nilai hambatan  $1,43 \cdot 10^5$ ,  $2,09 \cdot 10^5$  dan  $4,46 \cdot 10^5$  sel/ml. Kesimpulan bahwa aktivitas anti-HIV yang paling tinggi berasal dari *J. gendarussa* yang tersari dengan EtOH 70%.

**Kata kunci :** *Justisia gendarussa*, HIV-1 *reverse transcriptase* Inhibitor

## DAFTAR ISI

## Halaman

HALAMAN PENGESAHAN .....	i
IDENTITAS PENELITIAN .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iv
ABSTRAK .....	v
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	viii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
1 Klasifikasi Tanaman <i>Justicia gendarussa</i> Burm.f .....	4
2 Budidaya .....	7
3 Tinjauan Tentang Virus .....	8
4 Tinjauan Tentang HIV .....	10
4.1 Penyerangan Virus .....	10
4.2 Fusi dan penetrasi Viral .....	10
4.3 Tanpa Pelapisan ( <i>Uncoating</i> ) .....	11
4.4 Reverse transkriptase .....	11
4.5 Integrasi .....	11
4.6 Transkripsi .....	12
BAB III METODE PENELITIAN .....	13
1.1 Bahan Tanaman .....	13
1.2 Bahan Kimia .....	13
2 Alat .....	13
3 Prosedur Kerja .....	13
3.1 Ekstraksi .....	13
3.2 Prosedur Monitoring HIV .....	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	21
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	24
DAFTAR PUSTAKA .....	25



**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
<b>I</b> Klasifikasi virus berdasarkan sistem Baltimore.....	9
<b>II</b> Hasil pengukuran titer HIV total 250 $\mu$ l setelah inkubasi 60 menit .....	22
<b>III</b> Hasil pengukuran titer HIV total 200 $\mu$ l setelah inkubasi 60 menit .....	22
<b>IV</b> Hasil pengukuran titer HIV total 200 $\mu$ l setelah inkubasi 60 menit .....	23
<b>V</b> Hasil Uji BST.....	23

**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar</b>		<b>Halaman</b>
<b>1</b>	Tanaman <i>Justicia gendarussa</i> Burm.f .....	4
<b>2</b>	Struktur molekul Gendarusin A (Prajogo,2002).....	6
<b>3</b>	Struktur molekul Gendarusin B (Prajogo,2002).....	6
<b>4</b>	Struktur molekul alkaloid dalam daun <i>Justicia gendarussa</i> (Chakravarty, <i>et al.</i> , 1981).....	7
<b>5</b>	Siklus hidup HIV .....	11
<b>6</b>	Skema ekstraksi J.gendarussa dengan pelarut metanol 60% (Model I).....	14
<b>7</b>	Skema ekstraksi J.gendarussa dengan pelarut metanol absolut (Model II) .....	14
<b>8</b>	Skema ekstraksi J.gendarussa dengan pelarut etanol 70% (Model III) .....	15
<b>9</b>	Skema operasional penelitian anti HIV <i>in vitro</i> .....	16

## BAB I PENDAHULUAN



### LATAR BELAKANG

Gelombang penyebaran penyakit HIV-AIDS di Tanah Air terus menguat, terutama di golongan orang-orang muda dan produktif. Data Departemen Kesehatan menunjukkan hingga juni 2008 terdapat sekitar 6.782 orang berusia 20-29 tahun yang mengidap AIDS. Pengidap AIDS di kelompok usia ini adalah yang terbesar dibanding kelompok lain, karena peringkat terbesar kedua yakni usia 30-39 tahun ini hanya 3.539 orang. Generasi muda memang seolah sedang diincar oleh penyakit mematikan ini, dan celakanya lagi penyebaran penyakit sudah seperti fenomena gunung es. Yang muncul ke permukaan hanya secuil daripada yang sejatinya nyata di lapangan. Survey Terpadu Biologi dan Perilaku (STBP) terkait prevalensi HIV di Indonesia tahun 2007 menunjukkan bahwa sekitar 43-56% persen pengguna napza (narkotika, psikotropika dan zat aditif) suntik atau yang diangkat menjadi penasun, di empat kota yakni Medan, Jakarta, Bandung dan Surabaya telah terinfeksi HIV.

HIV-AIDS menjadi penyebab kematian terbesar ke 5 dari penduduk usia 25-44 tahun di Amerika Serikat. Pada tingkat global 25 juta penduduk telah meninggal sia-sia sejak epidemic infeksi penyakit ini dan 40,3 juta penduduk dunia saat ini hidup dengan mengidap HIV-AIDS. HIV menyebabkan AIDS, virus meyerang system kekebalan dan tinggal dalam tubuh yang dapat memacu timbulnya infeksi dan kanker. Umumnya bakteri, yeast, dan virus nampaknya tidak akan menjadi penyakit serius bila system kekebalan pada kondisi sehat, hal ini dapat berbeda dan akan menjadi fatal pada penduduk yang mengidap AIDS. HIV ditemukan di saliva, airmata, jaringan syaraf dan cairan spinal, darah, semen (cairan seminal dalam ejakulat), cairan vagina dan ASI. Tetapi hanya melalui darah, semen, sekresi vagina dan ASI umumnya infeksi ini dapat ditularkan.

AIDS dimulai dengan infeksi HIV, seseorang yang terinfeksi HIV mungkin tidak ada symptom selama 10 tahun atau lebih, tetapi tetap tertular infeksi maupun dapat menularkan kelainnya. Sementara itu jika infeksi tidak terdeteksi maupun tanpa pengobatan, system imun secara gradual melemah dan AIDS berkembang. Umumnya

symptom dapat berupa seperti flu dengan demam, rash, sore throat, sweats, chills, swollen lymph node, lemah dan penurunan berat badan.

Infeksi HIV berhubungan dengan penurunan jumlah sel CD<sub>4</sub> yang merupakan type sel imun juga disebut "T cell" atau "helper cell". Indikasi infeksi virus bila jumlah "CD<sub>4</sub> cell" dibawah 350 sel/ml, dan khusus infeksi HIV bila jumlah sel CD<sub>4</sub> dibawah 50 sel/ml. Selanjutnya untuk monitor pasien HIV adalah jumlah sel CD<sub>4</sub> yang dikenal dengan HIV-RNA.

Obat tradisional memberi kontribusi secara luas untuk penemuan senyawa baru yang memiliki aktivitas anti-HIV. Diantara tanaman memiliki protein yang dapat menghambat *HIV reverse transcription in vitro* (Ng et al.,1970; Jiratchariyakul et al.,2001). Beberapa *single chain ribosom inactivating protein* (SCRIP) yang diisolasi menunjukkan kekuatan aksi antiviral terhadap DNA dan RNA virus. Sebagai contoh MAP30 dan TAP 29 adalah protein SCRIP yang diisolasi dari biji *Momordica charantia* dan umbi *Trichosanthes kirilowii*. Kedua bahan tersebut dapat menghambat HIV-1 replication yang terinfeksi sel dan juga aktivitas inhibitor HIV-1 virus yang berhubungan dengan *reverse transcriptase* (Lee-Huang et al.,1990). Ekstrak air dan etanol 80% tanaman *Andrographis paniculata*, *Justicia gendarussa*, *Vitex trifolia* dan *Tinospora crispa* mempunyai aktivitas inhibitor HIV-1 *reverse transcriptase* (Woradulayaping et al.,2005)

*Justicia gendarussa* adalah tanaman yang sering digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat.

Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dicoba kemampuan *Justicia gendarussa* terhadap aktivitas inhibitor HIV-1 *reverse transcriptase*

## PERUMUSAN MASALAH

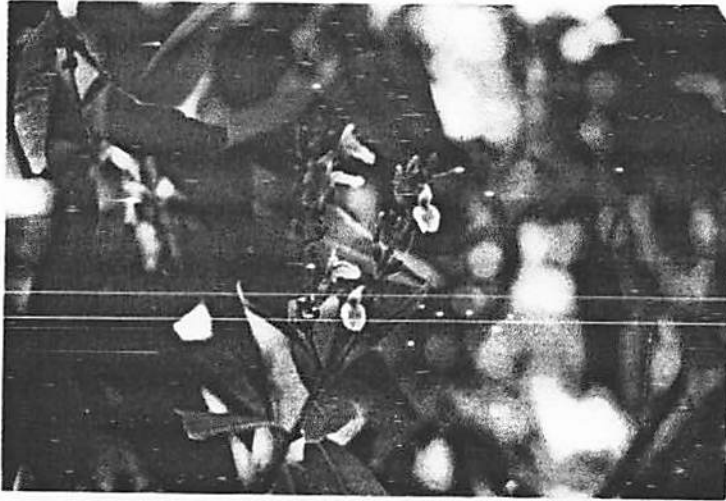
Apakah ekstrak air dan ekstrak etanol 70% dari daun *Justicia gendarussa* mempunyai aktivitas inhibitor HIV-1 *reverse transcriptase*

**TUJUAN PENELITIAN**

Menemukan aktivitas inhibitor HIV-1 *reverse transcriptase* pada fraksi air dan fraksi etanol 60% daun *Justicia gendarusa* dengan mengukur *viral load*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA



**Gambar 1.** Tanaman *Justicia gendarussa* Burm. f.

#### 1. Klasifikasi *Justicia gendarussa* Burm.f.

Klasifikasi (Van Steenis, 1978)

- Divisi : Spermatophyta  
Anak Divisi : Angiospermae  
Kelas : Dicotyledonae  
Anak Kelas : Sympetalae  
Bangsa : Schropulariales  
Suku : Acanthaceae  
Marga : *Justicia*  
Jenis : *Justicia gendarussa* Burm.f.  
Sinonim : *Gendarussa vulgaris* Nees  
*Justicia dahona* (Buch)  
*Justicia nigricans* Lair  
*Justicia salicina* Vahl

Nama daerah : Indonesia : besi-besi (Aceh), gandarusa (Melayu), handarusa (Sunda), gondarusa, Tetean, trus (Jawa). Ghandharusa (Madura). gandarisa (Bima). puli (Ternate (Heyne 1759). Malaysia : gandarusa, temenggong melela, urat sugi (Peninsular). Filipina : kapanitulot (Tagalog), bunlao (Bisaya), tagpayan (Iloko). Tailand; chiang phraa mon (central), pong am (Trat), kraduuk kaidam (noethern). Vietnam : t[aaf]n c[uwr]u, thu[[oos]c tr[awj]c, t[aaf]n gian (Padua *et al*, 1999).

Taksonomi : Infloresensi 3-12 cm, pubescent; kelopak 3 1/2 – 5 mm; mahkota 1 1/4 – 2 cm; bunga bentuk tabung berwarna ungu, 6-11 mm; bagian atas berbintik ungu, panjang 6-8 mm, bagian bawah cuneata-obovata, dengan lobus melingkar, pendek, dasar berbintik-bintik ungu; panjang filamen 3-6 mm, glabrous; tangkai putik gundul, *apically curved forward*; Batang muda berwarna ungu tua, batang tua berwarna coklat; Helai daun lanset, dari dasar cuneata, dengan puncak menyempit atau acuminata dan tepi subsinuata, tipis, glabrous, warna hijau gelap dengan nerve ungu gelap, 3-20 cm. 1 – 3 1/2 cm. 0,75-1,75; negara asal tidak diketahui; dikenal di Jawa sejak lama, saat ini sering dibudidayakan pada ketinggian 1-1500 m, di perkuburan, pagar, juga tumbuh liar di hutan (Backer and Bakhuizen, 1968).

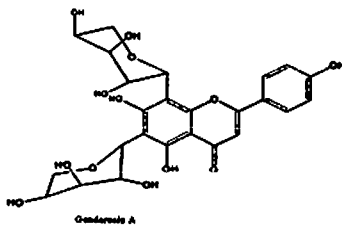
Distribusi : Pakistan, Sri Lanka, China, Thailand, Paninsular Malaysia, Indonesia (Jawa, Maluku) dan Filipina (Padua *et al*, 1999).

Penggunaan : Di Indonesia, daun digunakan untuk mengobati sakit kepala, reumatik, dan nyeri. Daun dan seluruh bagian tanaman digunakan sebagai obat kontrasepsi pria di Papua. Ekstrak daun atau akar muda digunakan sebagai emetikum pada batuk dan asma di Filipina, sedangkan daun segar digunakan secara topikal untuk mengobati udema pada penyakit beri-beri maupun reumatik. Dekok daun digunakan untuk membasuh selama masa nifas. Di Malaysia, daun banyak digunakan sebagai parem untuk mengobati sakit kepala dan nyeri, sebagai lotion untuk mengobati bengkak dan reumatik, akarnya digunakan untuk mengobati batuk. Daunnya juga digunakan sebagai sediaan untuk mengobati gonorrhoea, amenorrhoea dan malaria. Di Vietnam, daun digunakan secara eksternal, sebagai parem, dekok atau tincture untuk mengobati rematik, arthritis dan bengkak. Di Thailand, akar digunakan sebagai diuretik, antidiare dan sebagai antivenin;

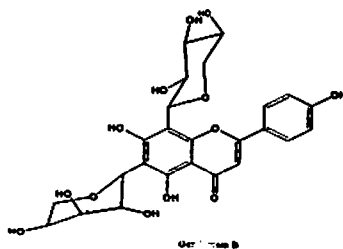
batangnya digunakan sebagai antipiretik, obat batuk, diuretik dan anti amuba, pada pengobatan luka dan alergi; daunnya digunakan secara internal untuk melawan batuk, demam, dan sebagai kardiotonik, dan secara eksternal untuk mengobati inflamasi, luka dan alergi. Beberapa penggunaan tercatat dari India dan Cina; akar digunakan untuk mengobati rematik, disuria, demam, *carbuncles*, *jaundice* dan diare; daunnya digunakan sebagai *diaphoretic* dan *febrifuge* dan untuk mengobati lumbago, amenorrhoea, bengkak, batuk, asma, kolik, eksema, *cephalalgia*, *hemiplegia*, *facial paralysis*, *earache* dan *hemicrania*; dan batangnya sebagai emetikum (Padua *et al*, 1999).

Sesuai dengan database FDA, *J. gendarussa* termasuk dalam kategori tumbuhan beracun.

Kandungan kimia: alkaloid, saponin, senyawa polifenol, minyak menguap, dan flavonoid (Utami, 2000). Senyawa flavonoid mayor daun *J. gendarussa* adalah 6,8-di-C- $\alpha$ -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksiflavan atau 6,8-di-C- $\alpha$ -L-arabinosilapigenin, diusulkan nama gendarusin A. Salah satu senyawa flavonoid minor daun *J. gendarussa* adalah 6-C- $\alpha$ -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-8-C- $\beta$ -D-siliporanosilflavan atau 6-C- $\alpha$ -L-arabinosil-8-C- $\beta$ -D-silosilapigenin, diusulkan nama gendarusin B (Prajogo, 2002).



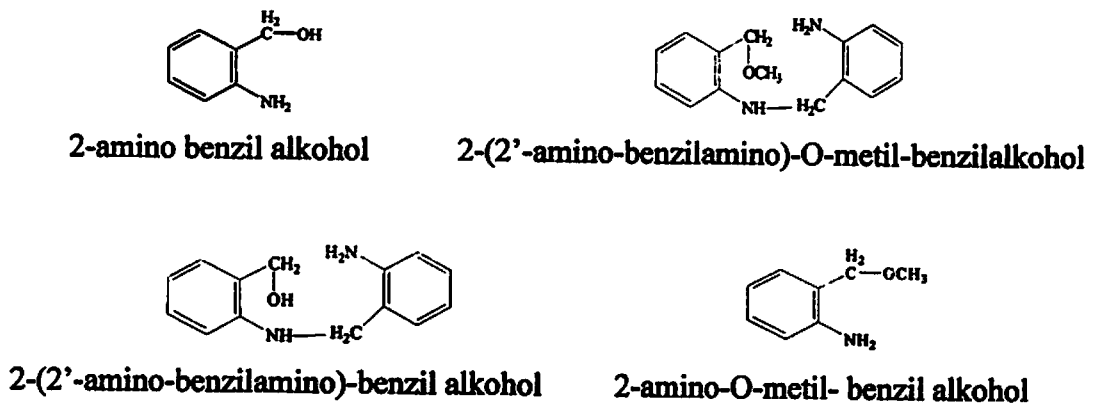
Gambar 2. Struktur molekul gendarusin A (Prajogo, 2002)



Gambar 3. Struktur molekul gendarusin B (Prajogo, 2002)



Senyawa alkaloid yang ditemukan pada tanaman *J. gendarussa* antara lain 2-amino benzil alkohol; 2-(2'-amino-benzilamino)-O-metil-benzil alkohol; 2-(2'-amino-benzilamino) benzil alkohol; dan 2-amino-O-metil-benzil alkohol (Chakravarty, *et al.*,1981).



**Gambar 4.** Struktur molekul alkaloid dalam daun *J. gendarussa* (Chakravarty, *et al.*,1981)

## 2. Budidaya

Penelitian tentang pengaruh pupuk dan waktu panen terhadap kadar gendarusin A telah dilakukan. Hasil menunjukkan bahwa kadar gendarusin A tertinggi terdapat pada sampel tanaman tanpa pupuk yang dipanen pada umur 9 bulan. Sampel dengan pupuk anorganik menghasilkan pertumbuhan tanaman yang paling tinggi.

Pada analisis dengan metode elektroforesis, sampel tanaman dengan pupuk organik (pupuk kandang), humus, dan pupuk anorganik pada elektroforegram 1 dimensi menunjukkan ikatan 2 protein dengan berat molekul  $\pm 56,05$  kDa dan  $\pm 15,70$  kDa yang selalu muncul. Pada elektroforegram 2 dimensi sampel tanaman dengan penambahan pupuk menunjukkan bahwa protein mempunyai titik isoelektrik yang berbeda. Titik isoelektrik pada sampel tanaman dengan pupuk organik pada kondisi asam adalah  $\pm 3,5-6,0$ ; sampel dengan pupuk humus pada suasana basa  $\pm 6,8-8,5$ ; sedangkan sampel dengan pupuk anorganik mempunyai titik isoelektrik yang berbeda pada masing-masing ikatan

protein. Titik isoelektrik ikatan protein dengan berat molekul yang lebih besar adalah pada  $\pm 4,5-6,5$  dan berat molekul yang lebih kecil pada  $\pm 7,0-9,0$  (Aryanti, 2005).

### 3. Standarisasi ekstrak

Penentuan parameter standar umum ekstrak ethanol-60%-daun *J. gendarussa* telah dilakukan. Hasil yang diperoleh adalah sebagai berikut (Permanasari, 2005):

- Kadar sari larut air : 73.223 %  $\pm$  5.5073
- Susut pengeringan : 61.7924 %  $\pm$  0.9932
- Berat jenis : 1.1826  $\pm$  0.0025
- Kadar air : 38.2076 %  $\pm$  0.9932
- Kadar abu : 10.2896 %  $\pm$  0.0365
- Cemaran logam berat : Zn = 0.704 mg/kg  
Cu = 0.263 mg/kg  
Tidak mengandung timbal dan kadmium
- Konsentrasi gendarusin A : 0.8374 %  $\pm$  0.06072

Parameter standar umum simplisia daun *J. gendarussa* sama dengan parameter standar umum yang ada di buku *Materia Medica Indonesia*.

### Tinjauan Umum Tentang Virus

Virus adalah suatu pertikel yang mengandung bahan genetik berupa DNA atau RNA yang diselubungi oleh protein yang disebut kapsid dan pada beberapa virus juga ada komponen lain, misalnya lemak. Satuan dasar virus disebut virion. Virus hanya dapat memperbanyak diri jika berada dalam suatu sel inang yang sesuai. Jika berada di luar sistem selular, virus tidak mampu memperbanyak diri karena tidak mempunyai sistem enzim yang dapat digunakan untuk sintesis pertikel virus yang baru. Oleh karena itu, virus disebut sebagai parasit obligat dan sering kali juga dianggap sebagai batas antara hidup dan jasad mati.

Diameter virus bervariasi dari 200-300 nm sehingga ukurannya lebih kecil dari sel prokaryota yang paling kecil. Ada awalnya virus diklasifikasikan berdasarkan atas inang yang ditumpanginya, sehingga ada tiga kelompok virus :

#### 1. Virus hewan

2. Virus tumbuhan
3. Virus bakteri (bacteriofag)

Sedangkan sistem klasifikasi Baltimore, membagi virus berdasarkan mekanisme produksi mRNA. Virus harus memproduksi mRNA dari genom mereka untuk memproduksi protein dan bereplikasi, namun berbagai macam mekanisme berbeda digunakan untuk memenuhi hal tersebut. Genom viral mungkin *single -stranded (sa)* atau *double-stranded (ds)*, RNA atau DNA, menggunakan atau tidak menggunakan *reverse transcriptase (RT)*. Pada dasarnya klasifikasi ini dibagi menjadi 7 kelompok (Van Regenmortel, 2004; Mayo, 1999; de Villier *et al.*, 2004).

**Tabel I. Klasifikasi virus berdasarkan sistem Baltimore**

No.	Klasifikasi	Contoh virus
I.	Virus dsDNA	Adenovirus, Herpesvirus, Poxvirus
II.	Virus ssDNA (+) sense DNA	Parvovirus
III.	Virus dsRNA	Reovirus
IV.	Virus (+) ssRNA (+) sense RNA	Picornavirus, Togavirus
V.	Virus (-) ssRNA (-) sense RNA	Orthomyxovirus, Rhabdovirus
VI.	Virus ssRNA-RT (+) sense RNA dengan DNA intermediate pada siklus hidup	Retrovirus
VII.	Virus dsRNA-RT	Hepadnavirus

Bahan genetik virus ada yang berupa molekul DNA dan ada yang berupa RNA. Molekul DNA dan RNA tersebut ada yang berupa molekul untai-tunggal (*single-stranded*) dan ada yang berupa molekul untai ganda (*double stranded*). Ekspresi genetik virus dilakukan dengan menggunakan sistem enzim yang ada di dalam sel inang. Meskipun virus bersifat parasit, namun perkembangan dalam genetika molekuler telah memungkinkan eksploitasi virus untuk kepentingan-kepentingan praktis. Bahan genetik

virus tertentu telah dipelajari secara rinci dan dimanipulasi untuk digunakan dalam eksperimen genetik (rekayasa genetik) (yuwono, 2005).

#### 4. Tinjauan tentang HIV

Memahami tentang siklus hidup HIV (Human Immunodeficiency Virus) dan replikasinya memungkinkan untuk mengembangkan pengobatan bila untuk penyembuhan HIV dan AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome). Tentang AIDS sendiri merupakan kumpulan penyakit yang timbul akibat penurunan daya tahan tubuh. Pengetahuan tentang replikasi atau bagaimana virus tersebut memperbanyak dirinya sendiri, hal ini memungkinkan kita dapat mengembangkan obat yang menghambat proses tersebut dan menurunkan serangan virus pada imunitas kita.

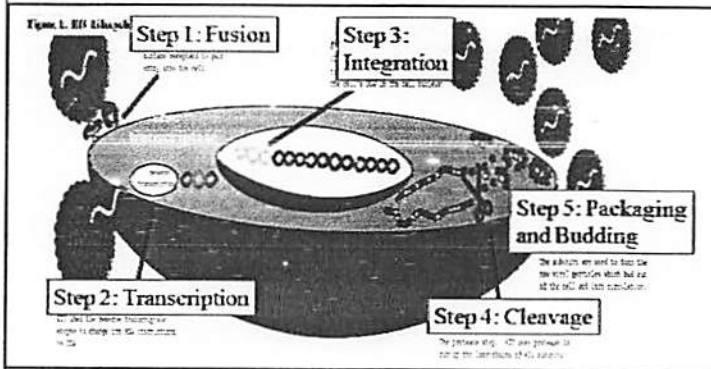
Dalam kenyataannya sebelum terjadinya infeksi HIV harus masuk terlebih dahulu ke tubuh. Terlihatnya dalam cairan tubuh yang terinfeksi dapat melalui kontak seksual atau melalui jarum suntik yang digunakan berulang-ulang dan bergantian, hal ini merupakan cara penularan pertama dalam tubuh. Infeksi dapat terjadi pada anak-anak dan saat pemberian ASI yang menyebabkan seseorang menjadi tertular HIV. HIV memulai siklus hidup bila virus tersebut berikatan dengan CD4-receptor dan satu atau dua co-receptor dipermukaan CD4 T-lymphocyte.

##### 4.1. Penyerangan virus

Dalam tubuh, HIV memerlukan *host* yang akan membantu dalam berkembang biak dan penyerangannya menggunakan sistem *lock and key*. Dalam hal ini *host* adalah sel T atau sel CD4. Setiap sel selalu membentuk protein yang diperlukan untuk perkembangan diri.

##### 4.2. Fusi dan penetrasi viral

Salah satu penyerangan dalam sel, virus menginjeksi protein ke dalam sitoplasma (cairan sel) dari sel T. Hal ini yang menyebabkan fusi dari membran sel menuju selaput (*envelop*) HIV.



Gambar 5 ; Siklus hidup HIV

#### 4.3. Tanpa pelapisan (*Uncoating*)

Pada penggunaan material genetik (RNA) untuk reproduksi, perlindungan pelapisan terhadap RNA harus dilakukan. Tanpa proses ini, konversi RNA menjadi DNA (bloking bentukan baru copy HIV) tidak dapat terjadi, dan reproduksi berhenti.

#### 4.4. Reverse transkriptase

Dalam sel, untai tunggal RNA dari HIV harus berkonversi menjadi untai ganda DNA. Semua proses ini melibatkan enzim *Reverse transcriptase*. Enzim reverse transcriptase berguna untuk memblokir bentukan dari sel T untuk membantu merubah virus (HIV) RNA menjadi virus DNA. DNA berisi informasi genetik untuk reproduksi HIV.

Penyebutan obat inhibitor reverse transcriptase adalah memblokir enzim reverse transcriptase HIV pada proses perkembangan. Nucleoside dan nucleotide analog dengan reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) dan berisi protein lain (imitasi) yang ditemukan dalam sitoplasma sel T. Terkait dengan protein yang berfungsi untuk perubahan menjadi DNA, adanya NRTIs akan membentuk block perkembangan baru (imitasi) yang akan mencegah pembentukan untaian ganda DNA. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor akan memblokir reverse transkripsi oleh penyerangan enzyme dengan cara mencegah dalam hal fungsinya.

#### 4.5. Integrasi

Bentukan HIV DNA masuk dalam inti sel host, dimana enzyme HIV disebut "hides" HIV DNA didalam DNA sel host. Integrasi DNA HIV disebut provirus. Provirus akan

tinggal lam kondisi inaktif untuk beberapa tahun, menghasilkan beberapa atau tidaka ada copy HIV baru.

#### 4.6. Transkripsi

Apabila sel host menerima sinyal untuk menjadi aktif, virus menggunakan enzyme RNA polymerase yang ada dalam sel host untuk memperbanyak material genomic HIV, untaian pendek RNA disebut mRNA. mRNA digunakan sebagai blue print untuk membentuk unyaian panjang dari protein HIV.

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **1 Bahan Tanaman**

Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian daun *Justicia gendarussa* Burm f. yang diperoleh dari wilayah Pacet, Mojokerto. Tanaman ini telah diidentifikasi di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi.

#### **2. Bahan kimia**

Etanol pharmaceutical grade, HCl pa, metanol pro HPLC, etanol pa, n-heksan, aquadest, tween, milipore 0,2  $\mu$ m, *Artemia nobile*, gendarusin A

#### **2. Alat**

Grinding, 1 set ekstraktor, Cobas Amplicor HIV-1 Monitor Test v1,5 Roche Diagnostic, Chamber, rotavapor Buchi, HPLC diode array

#### **3. Prosedur kerja**

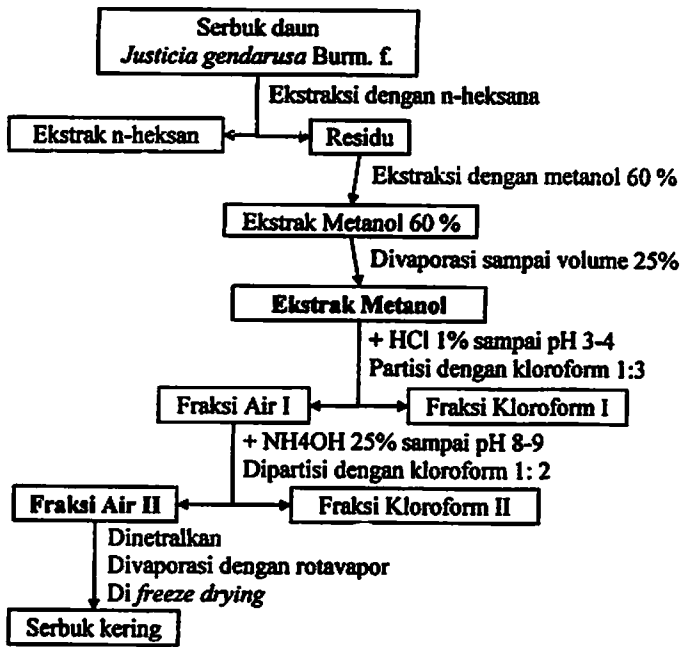
##### **3.1. Ekstraksi**

Ekstraksi dilakukan terhadap serbuk daun gendarusa dengan beberapa model ekstraksi yang mementingkan senyawa yang dikehendaki antara lain mulai dari pelarut non polar sampai dengan polar.

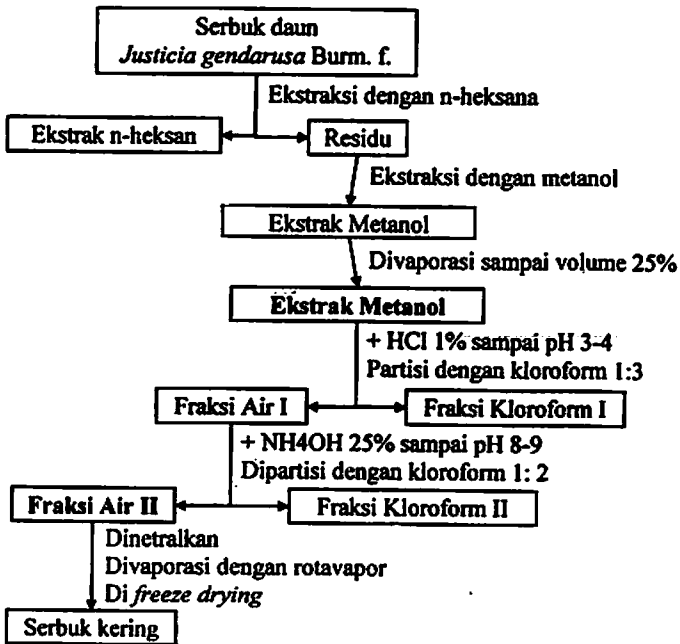
Model I, diawali dengan penyarian dengan pelarut n-heksan untuk eliminasi lemak dan klorofil yang terdapat pada daun, selanjutnya residu disari dengan metanol 60% dan dilakukan pembebasan alkaloid metode asam basa, ekstrak yang diperoleh adalah fraksi air bebas alkaloid untuk dilakukan uji.

Model II, seperti pada model I tetapi pelarut yang digunakan adalah metanol absolut, demikian pula ekstrak yang diperoleh adalah fraksi air untuk sampel uji.

Model III, berbeda dengan model I dan II bahwa pembebasan alkaloid dilakukan diawal pada serbuk daun gendarusa dengan pencucian menggunakan HCL 3 N, selanjutnya residu disari dengan pelarut etanol 70% yang digunakan untuk uji.

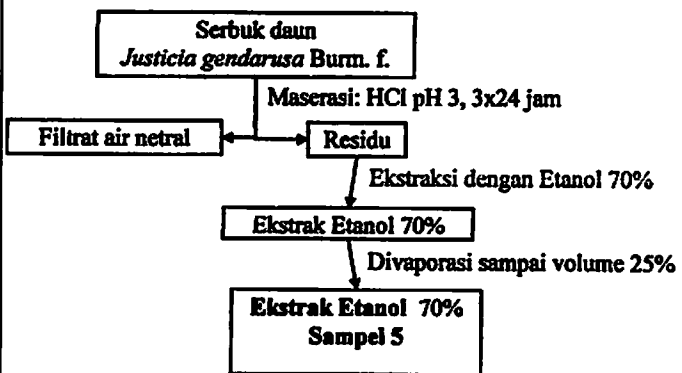


Gambar 6 : Skema ekstraksi *J.gendarussa* dengan pelarut metanol 60% (Model I)

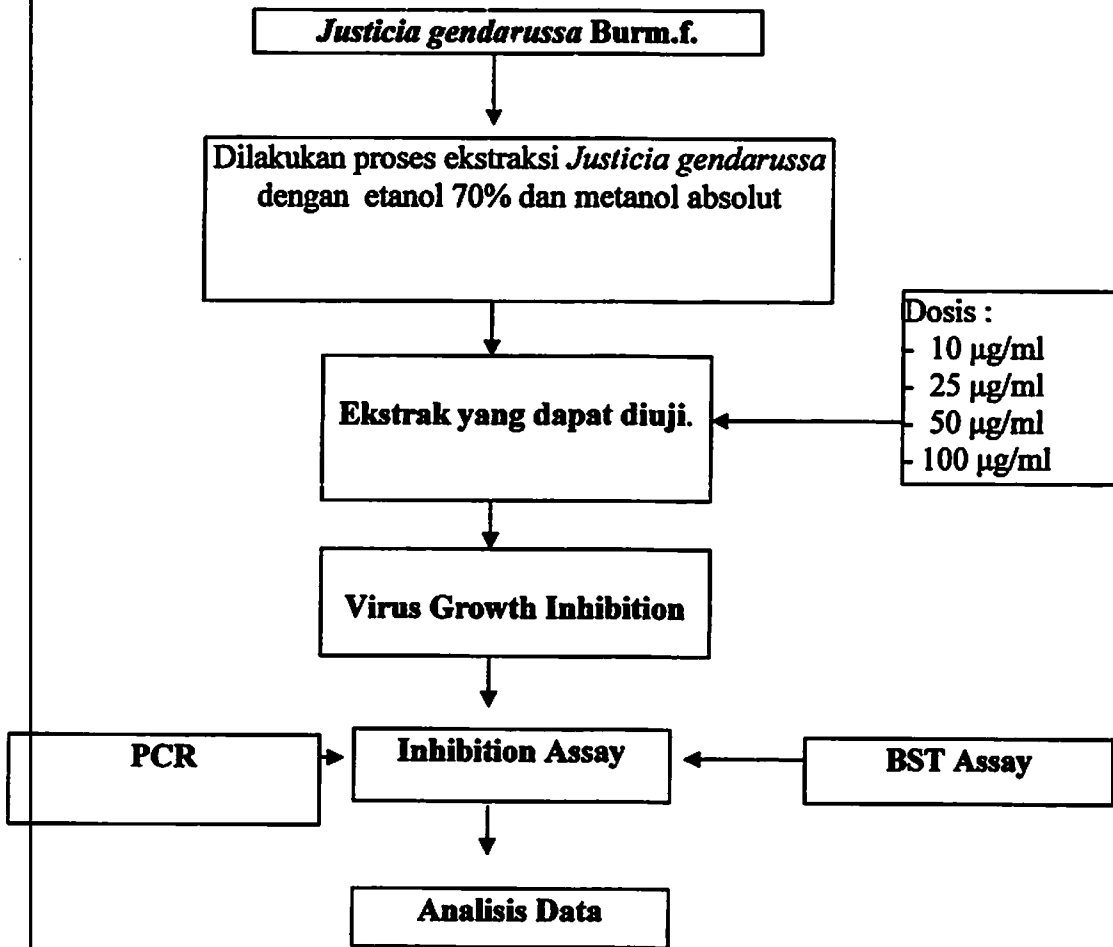


Gambar 7 : Skema ekstraksi *J.gendarussa* dengan pelarut metanol absolut (Model II)





Gambar 8 : Skema ekstraksi *J.gendarussa* dengan pelarut etanol 70% (Model III)



Gambar 9 : Skema operasional penelitian anti HIV *in vitro*

### 3.2. Prosedur Monitoring HIV

#### Pre-PCR : Preparasi reagensia

1. Tentukan jumlah A-ring yang dibutuhkan dan akan diperiksa baik untuk spesimen pasien maupun kontrol. Letakkan A-ring pada A-ring holder.
2. Siapkan Working Master Mix dengan menambahkan 100  $\mu$ l HIV-1 Mn<sup>2+</sup> yang sudah divortex kedalam satu vial HIV-1 Master Mix. Tutup kembali tabung Master Mix dan campur dengan cara membalik-balikkannya sebanyak 10-15 kali. Mater Mix jangan divortex. Catat nomer lot di lembar kerja.
3. Pipet 50  $\mu$ l Working Master Mix kedalam masing-masing tabung MicroAmp (A-tube) menggunakan pipet repeator dengan combitip 1,25 ml atau dengan pipet mikro dan tip berfilter.
4. Tabung MicroAmp jangan ditutup dahulu, tetapi masukkan kedalam kantung plastik berkunci.
5. Pindahkan A-ring yang telah diisi Working Master Mix ke Area 2. Simpan dalam suhu 2-8° C sampai siap digunakan.

#### Pre-PCR : Preparasi spesimen dan kontrol

1. Larutkan endapan kristal yang terbentuk didalam reagensia HIV-1 Lysis dengan memanaskan reagensia pada suhu 25-37° C dan campur dengan baik.
2. Siapkan etanol 70% dengan cara menambahkan 14 ml etanol absolut dan 6 ml akuades bidestilasi, atau campur 11 ml etanol 95% dan 4 ml akuades bidestilasi untuk 12 tes. 1 ml etanol 70% diperlukan untuk proses setiap sampel.
3. Catat lokasi kontrol dan spesimen serta nomer lot di kertas kerja.
4. Tandai setiap tabung tutup ulir 2 ml untuk setiap spesimen yang akan diproses, termasuk tabung untuk kontrol negatif (HIV-1 (-)C) , kontrol positif rendah (HIV-1 L(+) C) dan kontrol positif tinggi (HIV-1 H(+)C). Tandai juga untuk orientasi pelet pada setiap tabung.
5. Siapkan reagen Working Lysis dengan menambahkan 100  $\mu$ l HIV-1 Quantitation Standard (QS) yang sudah divortex 5-10 detik kedalam botol reagen HIV-1 Lysis, warna pink akan segera terbentuk untuk memastikan telah adanya penambahan reagen HIV-1 QS kedalam botol reagen HIV-1 LYS. Reagen Working Lysis stabil dalam waktu 4 jam bila disimpan pada suhu ruang.

**Catatan :** Jika menggunakan specimen yang disimpan dalam freezer, terlebih dahulu specimen *dithawing* pada suhu ruang, kemudian di vortex (3-5) detik.

6. Tambahkan 600  $\mu$ l reagen Working Lysis kedalam setiap tabung microAmp.

7. Tambahkan **200 µl AMPLICOR MONITOR Normal Human Plasma (NPH)** kedalam tabung untuk kontrol negatif, positif rendah dan positif tinggi. Campur dengan cara divortex.
8. Tambahkan **200 µl spesimen pasien** yang sudah divortex kedalam tabung yang berisi reagen Lysis. Campur dengan cara divortex.
9. Pipet **50 µl kontrol negatif, kontrol positif rendah dan kontrol positif tinggi** kedalam tabung tutup ulir menggunakan pipet mikro dan tip berfilter. Campur dengan cara divortex.
10. Inkubasikan tabung microAmp spesimen dan kontrol selama 10 menit dalam suhu ruang.
11. Tambahkan **800 µl isopropanol 100%** (suhu ruang) kedalam masing-masing tabung microAmp, kemudian vortex.
12. Letakkan tabung kedalam mikrofus dengan tanda orientasi menghadap keluar. Tabung disentrifus selama 15 menit pada 12.500 –16.000xg pada suhu ruang.
13. Buang supernatan dari tiap tabung menggunakan pipet transfer berujung kecil . **Jangan sampai pelet terhisap dan terbang.**
14. Tambahkan 1 ml etanol 70% kedalam setiap tabung dan vortex.
15. Letakkan tabung kedalam mikrofus dengan tanda orientasi menghadap keluar. Tabung disentrifus selama 5 menit pada 12.500 –16.000xg pada suhu ruang.
16. Buang supernatan dari tiap tabung menggunakan pipet transfer berujung kecil. **Jangan sampai pelet terhisap dan terbang. Pastikan semua etanol terbang dari tabung.**
17. Tambahkan **400 µl HIV-1 DIL** pada tiap tabung, vortex. Spesimen dan kontrol dapat diamplifikasi dalam waktu 2 jam, jika amplifikasi tidak akan langsung dilakukan : specimen dapat disimpan pada suhu -20°C selama 1 minggu. Tidak boleh digunakan specimen dan kotrol yang telah *dithawing* lebih dari 1 kali.

**Jika Spesimen dan kontrol yang telah disimpan dalam frezer akan diamplifikasi, maka sebelumnya *dithawing* terlebih dahulu pada suhu ruang dan divortex ± 5 detik.**

18. Tambahkan **50 µl spesimen/kontrol** yang sudah diproses kedalam tabung MicroAmp yang sudah disiapkan terLEBIH dahulu, menggunakan pipet mikro dengan tip berfilter. Hindari kontaminasi dari partikel lainnya. Tutup rapat tabung MicroAmp dengan tutupnya. Siap diamplifikasi di Area-3.
19. Catat posisi spesimen dan kontrol dalam A-ring. Amplifikasi harus segera dilakukan dalam 45 menit setelah proses specimen dan kontrol ditambahkan

kedalam tabung microAmp yang berisi working master mix. Pindahkan A-ring pada area Amplifikasi (TCA/TCB) yang terdapat pada mesin Cobas Amplicor.

### **Post-PCR : Amplifikasi dan deteksi**

**Lakukan beberapa prosedur pemeliharaan instrument COBAS AMPLICOR sebagai berikut :**

- Usap (lap) *initialization post* (logam berbentuk segiempat) dengan kapas yang mengandung alkohol dan keringkan.
- Bersihkan D-cup *handler tip* dengan kapas yang mengandung alkohol dan keringkan
- Periksa wash buffer dan buat kembali yang baru jika diperlukan
- Siapkan **Working Wash Buffer (1X)** dengan pengenceran 1 volume **Wash Buffer (WB)** dan 9 volume akuades di dalam tabung tempat **WB**. Dicampur dengan baik. Sediakan minimum 3-4 liter **WWB** dalam tabung tempat **WB**.
- Kosongkan tabung pembuangan
- Lakukan *prime*
- Pada saat mesin sedang *prime*, periksa syringe, tubes, dan transfer tip

**Hal yang harus dilakukan setiap akan RUN :**

- Periksa tempat pembuangan dan kosongkan jika diperlukan
- Periksa tempat **Wash Buffer** dan tambahkan buffer jika diperlukan
- Ganti rak D-cup yang telah digunakan dengan yang baru
- Lakukan *prime*

**Amplifikasi dan Deteksi dengan mesin COBAS AMPLICOR :**

1. Perkirakan jumlah reagen yang akan digunakan. Siapkan *reagent cassette* (botol reagen) untuk pemeriksaan yang akan dilakukan.
2. Vortex dengan baik **IM PS1**. Tambahkan **2.5 ml IM PS1** kedalam botol **IM4**. Simpan botol pada rak reagen spesifik. Buang botol vial **IM PS1**. Catat tanggal pembuatan reagen pada botol **IM4**.
3. Vortex dengan baik **IQ PS1**. Tambahkan **2.5 ml IQ PS1** kedalam botol **IQ4**. Simpan botol pada rak reagen spesifik. Buang botol vial **IQ PS1**. Catat tanggal pembuatan reagen pada botol **IQ4**.
4. Siapkan **Working Substrat** dengan memipet **5 ml SB** kedalam **1 botol SB3**. Campur dengan cara dipipet naik turun. Botol vial **SB** dapat dibuang. Catat tanggal pembuatan reagen **SB3** pada botolnya.
5. Letakan **Working Substrat** pada rak reagen generik.
6. Letakan botol **AD3** pada rak reagen spesifik dan catat tanggal dibukanya botol **AD3**.

7. Letakan botol DN4 dan CN4 pada rak reagen generik dan catat tanggal dibukanya kedua botol tersebut.
8. Tentukan rak-rak reagen sebagai rak reagen generik atau rak reagen spesifik menggunakan keypad atau barcode scanner.
9. Letakan botol-botol reagen di raknya dan masukkan/ program posisi reagent tersebut dan nomer lot pada mesin COBAS AMPLICOR menggunakan keypad atau barcode scanner.
10. Pastikan setiap botol reagen pada posisi yang tepat pada raknya masing-masing.
11. Letakan rak D-cup pada tempat D-cup. Enam buah D-cup dibutuhkan untuk setiap spesimen dan kontrol, 2 buah D-cup digunakan untuk setiap botol Working Substrat sebagai blanko pada mesin COBAS AMPLICOR.
12. Letakan A-ring kedalam bagian thermal cycler mesin COBAS AMPLICOR (TCA atau TCB).
13. Program nomer A-ring menggunakan keypad atau barcode scanner (Load A-ring).
14. Buat lembar kerja A-ring (*A-ring worklist*)

**Catatan :** Pada saat ini harus dimasukkan nilai *the lot specific Quantitation Standar copy number* (jumlah kopi standar PCR) dalam IU/PCR dan nilai range AMPLICOR HIV kontrol positif rendah dan kontrol positif tinggi yang ada dalam CA HIV MONITOR tests data card.

15. Tutup rapat penutup bagian thermal cycler.
16. Tekan tombol start mesin COBAS AMPICOR .
17. Tunggu sampai mesin mengindikasikan semua persiapan telah *Load checked passed*.

**Catatan :** mesin COBAS AMPLICOR dapat melakukan perhitungan kuantitatif secara duplo untuk setiap tabung A-ring. Setiap reagen deteksi yang dibutuhkan akan dihitung oleh mesin dan *Load check* akan dilakukan pada saat mesin di start jika reagen yang dibutuhkan cukup untuk test pemeriksaan yang diminta.

18. Proses Reverse transkripsi, amplifikasi, dilusi ampikon, dan deteksi secara otomatis akan dilakukan dalam mesin COBAS AMPICOR.

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

Pada beberapa model ekstraksi baik dalam pelarut methanol dan ethanol maupun kondisi bebas alkaloid ataupun tidak diperoleh fraksi yang berbeda kuantitasnya, jumlah terbesar ada dalam fraksi polar yaitu methanol dan ethanol dalam berbagai konsentrasi. Sedangkan dalam pelarut non polar seperti n-hexane dan chloroform diperoleh dalam jumlah sedikit. Diketahui bahwa kandungan utama dalam fraksi polar adalah gendarusin A yang merupakan jenis glikosida flavonoid. Dari berbagai fraksi atau ekstrak diperoleh konsentrasi virus per ml adalah dalam tabel II.

Dari hasil inkubasi fraksi-fraksi sampel uji terhadap human plasma HIV selama 60 menit terlihat bahwa dalam fraksi ethanol 70% memberi aktivitas paling kuat dibanding fraksi lain. Baik pada konsentrasi 10, 25, 50 dan 100 ppm, terlihat aktivitas anti-HIV yang menentukan viral load pada 100 ppm adalah  $1.43 \cdot 10^5$ . Penentuan aktivitas anti-HIV dapat dilihat dengan menghitung viral load maupun CD4 yang berbanding terbalik, artinya member efek positif bila viral load lebih rendah dari control negative atau jumlah CD4 meningkat dibanding control negative. Apabila fraksi ethanol 70 % memberikan efek yang baik dibanding fraksi lain, berarti dalam fraksi tersebut banyak mengandung senyawa glikosida apegenin dengan senyawa major gendarusin A. Seperti di ketahui sebelumnya bahwa dalam sampel uji fraksi ethanol 70% mengandung 1,4 % gendarusin A yang ditentukan dengan metode HPLC. Melihat dengan uji klinik sebelumnya bahwa pada uji bioavailabilitas dalam plasma atau serum darah terdeteksi metabolit gendarusin A dan juga muncul di ejakulat dan urine. Dengan demikian pada uji in vitro ini nantinya dapat dijadikan model interaksi langsung dengan virus dan telah diketahui sebelumnya bahwa hambatan pertumbuhan virus tersebut karena adanya hambatan enzim transkriptase tipe 1 HIV yang berfungsi replikasi dirinya sendiri. Untuk melihat kepastian kematian virus dapat diuji melalui identifikasi protein, mengingat virus tersebut sangat pathogen sehingga tidak mungkin dilakukan di Indonesia dikarenakan tidak tersedianya alat yang bekerja secara robot atau mecine.

Selanjutnya sebagai pendukung juga dilakukan uji sitotoksisitas pada udang (*Artemia salina*), terlihat bahwa pada konsentrasi 1000 ppm fraksi ethanol 70%

memberikan kematian terbesar. Dengan demikian ada hubungan korelasi antara hambatan pertumbuhan HIV dengan sitotoksitasnya.

**Tabel II , Hasil pengukuran titer HIV total 250 µl setelah inkubasi 60 menit**

No	Inisial	Sampel	Kadar	Hasil	Keterangan
1.	NN	Blanko DMSO	100 ppm	Low	Dibawah ambang
2	NN	Blanko Tween	100 ppm	Low	Dibawah ambang
3.	R	Eks EtOH 70 % tween	100 ppm	$1,47 \cdot 10^5$	sesuai
4.	MW	Eks Heksan Tween	100 ppm	$4,51 \cdot 10^4$	sesuai
5.	DK	Eks Heksan DmsO	100 ppm	$5,92 \cdot 10^5$	sesuai
6.	U	Eks Heksan tween	100 ppm	$6,56 \cdot 10^5$	sesuai
7.	PJY	Eks EtOH 70 % tween	100 ppm	$1,56 \cdot 10^5$	meragukan

**Tabel III, Hasil pengukuran titer HIV total 200 µl setelah inkubasi 60 menit**

No	Inisial	Sampel	Kadar	Hasil	Keterangan
1.	NN		10 ppm	$3,77 \cdot 10^5$	Pria 50 th
2	NN		25 ppm	$3,55 \cdot 10^5$	Pria 50 th
3.	NN		50 ppm	$3,87 \cdot 10^5$	Pria 50 th
4.	NN		100 ppm	$4,46 \cdot 10^5$	Pria 50 th
5.	NN		10 ppm	$7,12 \cdot 10^5$	Pria 50 th:
6.	NN		25 ppm	$5,89 \cdot 10^5$	Pria 50 th
7.	NN		50 ppm	$4,08 \cdot 10^5$	Pria 50 th
8.	NN		100 ppm	$1,43 \cdot 10^5$	Pria 50 th
9.	NN		10 ppm	$1,97 \cdot 10^5$	Pria 50 th
10.	NN		25 ppm	$2,37 \cdot 10^5$	Pria 50 th
11.	NN		50 ppm	$1,72 \cdot 10^5$	Pria 50 th
12.	NN		100 ppm	$2,09 \cdot 10^5$	Pria 50 th



**Tabel IV, Hasil pengukuran titer HIV total 200 µl setelah inkubasi 60 menit**

No	Inisial	Sampel	Kadar	Hasil	Keterangan
1.	NN	EtOH 70%	200 ppm	$4,94 \cdot 10^5$	-
2	NN	EtOH 70 %	300 ppm	$4,99 \cdot 10^5$	-
3.	NN	MeOH abs	200 ppm	$4,96 \cdot 10^5$	-
4.	NN	MeOH abs	300 ppm	$5,06 \cdot 10^5$	-

**Tabel V, Hasil uji BST**

Fraksi	Jumlah larva yang mati		
	10 ppm	100 ppm	1000ppm
<b>Methanol absolute</b>	-	1	0
	-	1	0
Jumlah	-	2	0
Rata-rata	-	1	0
<b>Methanol 70 %</b>	-	0	1
	-	2	2
Jumlah	-	2	3
Rata-rata	-	1	1.5
<b>Ethanol 70 %</b>	-	3	7
	-	4	6
Jumlah	-	7	13
Rata-rata	-	3.5	6.5
<b>N - hexane</b>	0	2	4
	0	3	3
Jumlah	0	5	7
Rata-rata	0	2.5	3.5

Selanjutnya uji dengan isolat murni gendarusin A 10 ppm terhadap HIV RNA viral load dengan metode yang sama RT\_PCR kuantitatif dengan hibridisasi (Cobas Amplicor HIV-1 Monitor Test v1,5 Roche Diagnostic) dari sebelumnya terdeteksi  $2,26 \cdot 10^5$  copies/ml setelah inkubasi selama 1 jam menjadi  $1,45 \cdot 10^5$  copies/ml. Hal ini menunjukkan adanya aktivitas hambatan replikasi HIV RNA dari senyawa isolat gendarusin A.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **Kesimpulan**

Fraksi ethanol 70% memberikan potensi anti- HIV dengan jumlah hambatan berturut-turut dengan konsentrasi 10, 25 50 dan 100 ppm menunjukkan penurunan pertumbuhan virus  $7.12 \times 10^5$ ,  $5.89 \times 10^5$ ,  $4.08 \times 10^5$  dan  $1.43 \times 10^5$  sel/ml.

#### **Saran**

Hasil virus yang terhambat pertumbuhan karena fraksi ethanol 70% dapat diteruskan identifikasi enzim transcriptase tipe 1 HIV melalui identifikasi protein yang kemungkinan besar membutuhkan peralatan khusus.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Avirutnant, W., Pongpan, A., 1983.** The Antimicrobial activity of some Thai flowers and plants. *Mahidol University Journal of Pharmacological Sciences* 10, 81-86.
- Bradford, M.M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteindye binding. *Analytical Biochem* 72, 248-254.
- Bread, W.A., Wilson, S.H., 1995.** Reverse transcriptase. In: Karn, J. (Ed), *HIV: A Practical Approach Biochemistry, Molecular Biology and Drug Discovery*, vol.2. Oxford University Press, Oxford, pp.15-35.
- Duke, J.A., Ayensu, E.S., 1985.** Medicinal Plant of China, vol.1. Reference Publicationa, Michigan, pp.232.
- Hames, B.D., 1990.** One-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. In: Hames, B.D., Rickwood, D. (Eds.) *Gel Electrophoresis of Proteins: A Practical Approach*, 2nd ed. Oxford University Press, new York, pp.1-147.
- Harris, E.L.V., 1989.** Concentration of the extract. In: Harris. E.L.V., Angal, S. (Eds.), *Protein Purification Methods: A Practical Approach*, Oxford University Press, New York, pp 125-174
- Jiratchariyakul, W., Wiwat, C., Vongsakul, M., Leelamanit, W., Somarabhandu, A., Fujii, I., Ebizuka, Y., 2001.** HIV inhibitor from Thai bitter gourd. *Planta Medica* 67, 350-353.
- Lee-Huang, S.,Huang, P.L., Nara, P.L, Chen, H.C., Kung, H.F., Huang, P., Huang, H.I., Huang, P.L., 1990.** MAP 30 A New inhibitor of HIV-1 infection and replication, *FEBS Letters* 272, 12-18.
- Ng, T.B., Huang, B., Fong, W.P., Yeung, H.W., 1997.** Anti-human immunodeficiency virus(anti-HIV) natural products with special emphasis on HIV reverse trancriptase inhibitors. *Life Science* 61, 933-949.
- Pornsiriprasert, D., Picha, P., Preechunakool, K., Ketsa-ard, K., Temcharoen, P., Chalermpanyakorn, P., Chulsuri, M.U., 1986.** Studies on the tumor activity of Thai folkloric remedy: traditional medicinal plants. *Asian Journal of Pharmacy Supply* 6, 124.

- Pornsiriprasert, D., Picha, P., Preechunakool, K., Ketsa-ard, K., Temcharoen, P., Chalermksanyakorn, P., Chulsuri, M.L.U.** 1987. Study of the anticancer activity of well-known Thai folkloric remedy. MHIDOL University. Annual Research Abstract and Bibliography of Non Formal Publication 14, 165.
- Sam, T.W.**, 1993. Toxicity testing using brine shrimp: *Artemia salina*. In: Colegate, S.M. (Ed.), *Bioactive Natural Product: Detection, Isolation, and Structural Determination*. CRC Press, New York, pp.441-456.
- Tan, G.T., Pezzuto, J.M., A.D.**, 1992. Screening of Natural products as HIV-1 and HIV-2 reverse transcriptase (RT) inhibitors of human immunodeficiency virus. In: Chu, C.K., Cutler, H.G. (Eds), *Natural Product as Antiviral Agent*. Plenum Press, New York, pp. 195-222.
- VanMiddlesworth, F., Cannell, R.J.P.**, 1998. Dereplication and partial identification of natural products. In: Richard, J.P., Cannell (Eds), *Methods in Biotechnology: Natural Product Isolation*. Humana Press, New Jersey, p. 291.
- Woradulanyapinij, W., Soonthornchareonnon, N., Wiwat, C.**, 2005. In vitro HIV type 1 reverse transcriptase inhibitory activities of Thai medicinal plants and *Canna indica* L. rhizomes. *Jornal of Ethnopharmacology* 101, pp. 84-89.