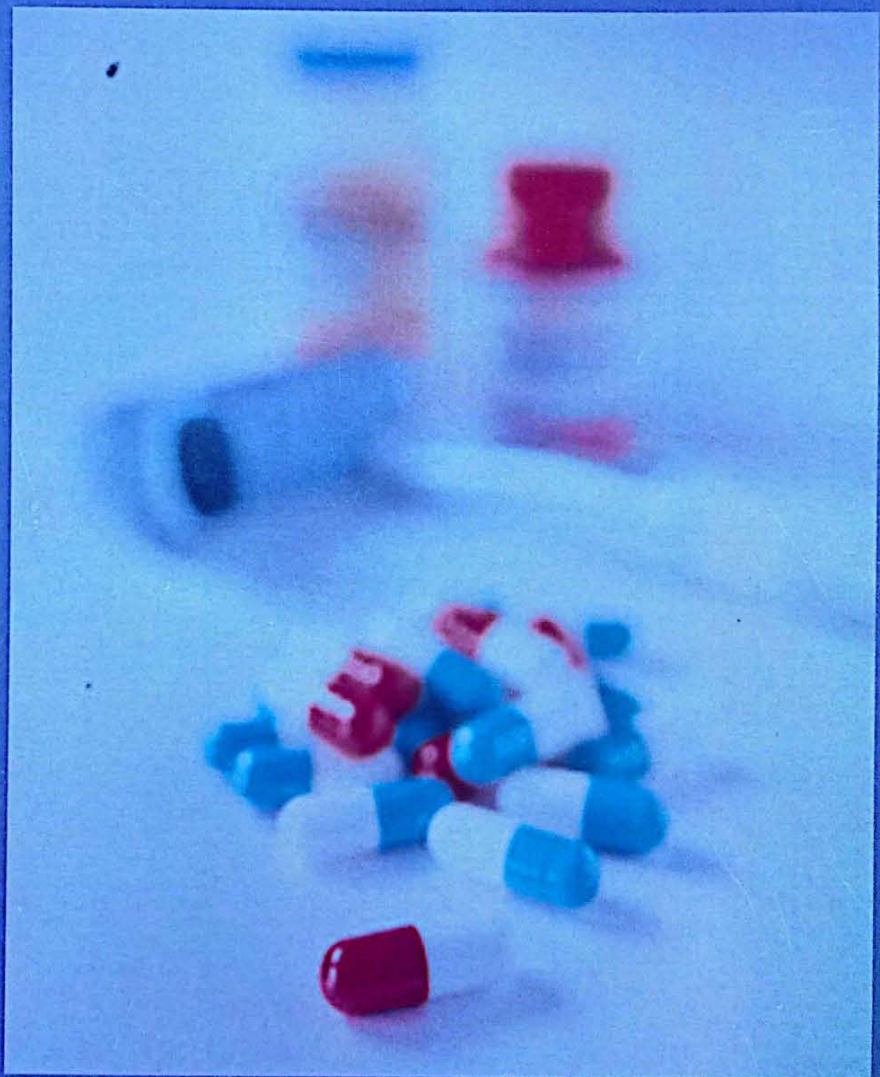


ISSN 2406-9388

# JURNAL FARMASI DAN ILMU KEFARMASIAN INDONESIA

VOL.2 No.2, DESEMBER 2015



**PENERBIT**  
**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**JURNAL FARMASI DAN ILMU KEFARMASIAN INDONESIA - ISSN : 2406-9388**  
SEKRETARIAT: d/a Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Jl.Dharmawangsa Dalam,  
Telp.(031)5033710 Fax.(031)5020514, Surabaya-60286 Email : [Jfki.farmasiua@gmail.com](mailto:Jfki.farmasiua@gmail.com)

Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia (JFIKI) mempublikasikan hasil penelitian, survei, telaah pustaka yang erat kaitannya dengan bidang kesehatan, khususnya bidang kefarmasian. JFIKI terbit tiap enam bulan. Naskah yang dimuat adalah naskah hasil seleksi yang telah disetujui oleh Dewan Redaksi dan belum pernah dipublikasikan di penerbitan lain. JFIKI diterbitkan secara online dalam bentuk fullpaper di website : [www.journal.unair.ac.id](http://www.journal.unair.ac.id).

**Penanggung Jawab** : Dr. Umi Athiyah, MS.,Apt. (ex officio Dekan FF-UA)

**Dewan Redaksi**

Ketua : Prof. Dr. Tutuk Budiati, MS.,Apt.  
Wakil Ketua : Prof. Dr.rer.nat. M.Yuwono, MS.,Apt.  
Anggota : Prof.Dr.Purwanto,Apt.  
Prof. Dr. Widji Soeratri,DEA.,Apt.  
Prof. Dr. Siswandono, MS., Apt.  
Prof. Dr. Bambang Prajogo, MS,Apt.  
Prof. Dr. Sukardiman, MS., Apt.  
Prof. Dr. Djoko Agus Purwanto, MSi.,Apt.  
Dr. rer.nat. Mulja Hadi Santosa, Apt.  
Dr. Isnaeni, MS.,Apt.  
Dr. Suharjono, MS.,Apt.  
Dra. Esti Hendradi, MSi., Ph.D.,Apt.  
Dr. Wahyu Utami, MS.,Apt.  
Dr. Budi Suprapti, MS.,Apt.  
Drs. Marcellino Rudyanto, MSi.,Ph.D.,Apt.

**Mitra Bestari** : Prof. Dr. Wahono Sumarjono, Apt.  
Dr. Koencoro Foe, Apt.

**Redaksi Pelaksana**

Ketua : Drs. Abdul Rahman, MSi.,Apt.  
Sekretaris : Dr. Dwi Setyawan, MSi.,Apt.  
Anggota : Mahardian Rahmadi, S.Si., MSc., Ph.D.,Apt.  
Helmy Yusuf, S.Si., MSc., Ph.D.,Apt.  
Suciati, S.Si., M.Phil., Ph.D.,Apt.  
Dr. Juni Ekowati, MSi.,Apt.

# DAFTAR ISI

Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia ISSN : 2406-9388  
Vol.2 No.2 Desember 2015

Aktivitas antivirus influenza dari ekstrak metanol buah <i>Momordica charantia</i> <b>Neny Purwitasari, Herra Studiawan, Kadek Rahmawati.</b> .....	34
Identifikasi Golongan Senyawa Dan Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol 95% Daun, Kulit Batang Dan Akar Pulau ( <i>Alstonia scholaris</i> (L.) R. Br.) Terhadap Mencit Balb/C <b>Ismiyah, F. dan Fauziyah, B.</b> .....	41
Aktivitas Antibakteri Kombinasi Susu Probiotik <i>Lactobacillus bulgaricus</i> Dan <i>Streptococcus</i> <i>thermophilus</i> Terhadap Bakteri Penyebab Diare <b>A.Faruk Alrosyidi, Asri Darmawati, Isnaeni, Noor Erma N. Sugijanto.</b> .....	44
Potensi Antimalaria Dan Pemeriksaan Mikroskopik-Fitokima Daun Beberapa Tanaman Genus <i>Cassia</i> <b>Wiwied Ekasari, Tutik Sri W, Ratno Adji Satyo Y.</b> .....	48
Optimasi Campuran Manitol - Pemanis Stevia Sebagai Pemanis Tablet Kunyah Ekstrak Jahe Merah ( <i>Zingiber officinale</i> Roscoe var. <i>rubrum</i> ) Dengan Metode <i>Simplex Lattice Design</i> <b>Agus Prasetyo, Nining Sugihartini.</b> .....	53
Efek Apoptosis Ekstrak Etanol Ganggang Hijau ( <i>Ulva lactuca</i> ) Pada Jantung Tikus Yang Diinduksi Isoproterenol. <b>Wahyu Widyaningsih, Putri Utami, Ceria Rizki Amalia, Silfi Amelia, M. Reza Ramadhani,</b> <b>Retnosari.</b> .....	59
The Effect of Anting-anting ( <i>Acalypha indica</i> Linn) Extract with <i>Malondialdehyde</i> Levels of Balb/C Mice Induced Streptozotocin <b>Martini, Yessi Perlitasari, Diding Heri Prasetyo, Ipop Syarifah.</b> .....	64

**Aktivitas antivirus influenza dari ekstrak metanol buah *Momordica charantia***Neny Purwitasari<sup>1</sup>, Herra Studiawan<sup>1</sup>, Kadek Rahmawati<sup>2,3</sup><sup>1</sup>Departemen Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga<sup>2</sup>Avian Influenza Research Center, Universitas Airlangga<sup>3</sup>Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga**Abstract**

The outbreak of influenza A (H1N1) viruses has raised a global concern on the future risk of a pandemic. Oseltamivir, the current influenza drug, could not meet the demand if there is a major outbreak. Thus, there is a need to find alternative treatment for influenza A. Our molecular docking work on influenza inhibition activity has led to the selection of plant to be studied, *Momordica charantia*. The objectives of this study were to determine the antiviral activity of *Momordica charantia* fruits against H1N1 influenza virus inoculated in 11-days embryonated chicken eggs. The antiviral activity was performed in hemagglutination assay using chicken red blood cells. This is a method for titrating influenza viruses based on their ability to attach to molecules present on the surface of red blood cells. Result showed that there is no toxicity detected on the chicken embryos after treated with 1000 µg/ml the extract for 72 hours. The extract inhibits 75.5% of the H1N1 hemagglutinin titer. In conclusion, the methanolic extract of *Momordica charantia* fruits has a potential to be developed as antiinfluenza.

**Keywords:** Influenza A, H1N1, *Momordica charantia*

**PENDAHULUAN**

Virus influenza A adalah suatu virus RNA rantai negatif dengan genom bersegmen yang termasuk dalam famili Orthomyxoviridae (Ehrhardt *et al.*, 2007). Virus influenza A banyak menyebabkan masalah pada manusia dan ternak, khususnya pada unggas dan babi. Hal tersebut berkaitan dengan mutasi genetik *antigenic drift* dan *antigenic shift* yang sering terjadi dan tidak terduga. Mutasi mengakibatkan terbentuknya *strain* virus baru, beberapa diantaranya memiliki kemampuan *cross species barrier* dan bersifat patogenik terhadap inang yang baru (Pleschka, 2009). Virus memiliki berbagai macam strategi untuk menimbulkan penyakit. Setiap *strain* memiliki konfigurasi yang unik pada permukaannya, sehingga memungkinkan untuk menembus ke dalam sel inang dengan mudah (Chattopadhyay, 2009). Faktanya, virus influenza A masih merupakan masalah utama untuk kesehatan manusia dan belum dapat diberantas karena besarnya reservoir alami virus tersebut. Hingga kini, pengenalan gen virus avian terhadap populasi manusia dapat terjadi setiap waktu dan memungkinkan terjadinya peningkatan pandemik baru (Ehrhardt *et al.*, 2007).

Penelitian tentang seroprevalensi secara epidemiologis menunjukkan bahwa dua subtipe virus influenza A sudah mewabah dalam populasi manusia sejak 1977, yaitu influenza A subtipe H1N1 dan H3N2. Penggabungan virus influenza A subtipe H1N1 dan H3N2 memunculkan virus influenza musiman baru subtipe H1N2 selama 2001-2002 dan 2002-2003. Pada bulan April 2009, virus influenza A subtipe H1N1 terbaru muncul dan kemudian ditetapkan sebagai pandemi oleh WHO pada bulan Juni, 2009 (Depkes RI, 2009). Virus ini berbeda dari virus influenza A subtipe H1N1 yang pernah mewabah sebelumnya, sejak pertama muncul dan kemudian menyebar menyebabkan timbulnya pandemik pertama di abad ke-21. Selama abad

ke-20, pandemik terjadi di tahun 1918 (A [H1N1]), 1957 (A [H2N2]), dan 1968 (A [H3N2]) (Blanton *et al.*, 2011). Pandemi virus influenza A subtipe H1N1 tahun 2009 menyebabkan 162.380 kasus dengan 1.154 kematian hingga 4 Agustus 2009, yang terjadi pada 168 negara di seluruh dunia. Di Indonesia terjadi 838 kasus dengan 3 kematian hingga 12 Agustus 2009 (Depkes RI, 2009). Sedangkan untuk virus influenza A subtipe H5N1 terjadi 650 kasus selama 2003 sampai 24 Januari 2014 dengan 386 kematian. Di Indonesia sendiri terdapat 195 kasus dengan 163 kematian akibat virus tersebut (WHO, 2014).

Pengobatan dan pencegahan influenza dapat dilakukan melalui pemberian antivirus dan vaksinasi. Saat ini terdapat 2 golongan obat antivirus influenza, yaitu golongan *adamantane* dan inhibitor neuraminidase. Obat yang termasuk golongan *adamantane* adalah amantadin (Symmetrel) dan rimantadin (Flumadin). Kedua obat tersebut bekerja dengan cara menghambat replikasi virus melalui inhibisi saluran ion M2 dan hanya memiliki aktivitas pada influenza A, karena hanya influenza A yang memiliki saluran ion M2. Golongan selanjutnya adalah inhibitor neuraminidase, yaitu zanamivir (Relenza) dan Oseltamivir (Tamiflu). Mekanisme kerjanya adalah melalui penghambatan pelepasan virus melalui inhibisi enzim neuraminidase. Untuk upaya pencegahan dapat dilakukan vaksinasi terhadap orang-orang yang berisiko tertular virus influenza dan tidak alergi terhadap komponen vaksin. *World Health Organization* (WHO) telah merekomendasikan upaya pencegahan lainnya bagi orang-orang yang berisiko tinggi kontak dengan unggas atau pasien yang terinfeksi, yaitu dengan pemberian terapi profilaksis 75mg oseltamivir sekali sehari, selama 7-10 hari (Emmeluth, 2003; Radji, 2006).

Saat ini, kepraktisan dan efikasi vaksinasi yang tepat waktu mulai dipertanyakan (Pleschka *et al.*, 2009).

Pengendalian infeksi virus yang dilakukan menggunakan antivirus kimia sintetis secara intravena (IV) biasanya terbatas dengan kemunculan *strain* virus baru yang resisten dan hal ini tidak dapat dihindari. Beberapa kasus resistensi telah diteliti, antara lain resistensi terhadap inhibitor saluran ion M2, seperti turunan *adamantane* dan inhibitor neuraminidase seperti oseltamivir dan zanamivir (Pleschka *et al.*, 2009). Resistensi pada turunan *adamantane* terjadi karena adanya substitusi asam amino tunggal pada urutan 26 (Leu→Phe), 27 (Val→Ala atau Thr), 30 (Ala→Thr atau Val), 31 (Ser→Asn atau Arg) dan 34 (G→E) dalam domain trans membran M2 (Dharmayanti *et al.*, 2010). Sedangkan resistensi pada golongan inhibitor neuraminidase terjadi karena substitusi satu asam amino pada neuraminidase (NA), yaitu mutasi H274T (Mahardika *et al.*, 2008). Spesifisitas suatu *strain* virus juga merupakan keterbatasan dari penggunaan inhibitor-inhibitor tersebut (Pleschka *et al.*, 2009).

Pendekatan alternatif untuk mengatasi masalah resistensi ini perlu segera dilakukan karena sangat mendesak. Salah satu pendekatan yang dilakukan adalah penggunaan antivirus herbal yang didapatkan dari ekstrak suatu tanaman, yang memiliki spektrum luas. Antivirus herbal memberikan penghambatan yang luas terhadap beberapa *strain* virus melalui inaktivasi langsung maupun menghambat satu atau lebih tahap-tahap penting replikasi virus. Selain itu, antivirus herbal sering menunjukkan berbagai macam bioaktivitas. Hal tersebut memungkinkan penggunaan senyawa aktifnya dalam dosis yang relatif rendah, memungkinkan terjadinya efek sinergis, serta mampu menyediakan obat yang relatif aman dengan efek samping yang minimal. Disamping itu, senyawa-senyawa bioaktif yang terlibat dalam aktivitas antivirus tersebut dapat menurunkan risiko munculnya resistensi (Pleschka *et al.*, 2009).

Baru-baru ini beberapa ulasan mengenai penemuan obat baru untuk berbagai macam infeksi virus dari bahan alam telah diterbitkan. Beragam senyawa kandidat dari fitokimia dan turunan sintetisnya telah diidentifikasi melalui penelitian *in vitro* dan *in vivo* dalam pengujian biologis yang berbeda. Perbedaan struktur yang mengagumkan dan bioaktivitas dari bahan alam berspektrum luas dapat diselidiki sebagai sumber antivirus (Chattopadhyay *et al.*, 2009)

Aktivitas antivirus influenza dapat diuji melalui media sel (MDCK) atau Telur Ayam Berembrio (TAB). TAB adalah telur ayam yang berusia 9-11 hari. Salah satu syarat pengujian melalui media sel ataupun TAB adalah antivirus tersebut harus tidak toksik terhadap media. Media sel ataupun TAB yang telah mati oleh antivirus tidak dapat menumbuhkan virus, sehingga akan didapatkan hasil positif palsu. Oleh karena itu perlu dilakukan uji toksisitas antivirus uji terhadap media (Chattopadhyay *et al.*, 2009; Krisnawan, 2011). Penggunaan TAB termasuk dalam percobaan *in ovo*, tingkatannya berada di antara percobaan *in vivo* dan *in*

*vitro*. TAB yang diinokulasi dengan virus untuk mengetahui kemampuan suatu antivirus baru dapat mengurangi penggunaan mencit untuk percobaan (Wang *et al.*, 2008). Pengujian aktivitas antivirus tersebut dilakukan menggunakan uji penghambatan hemaglutinin (HA). Uji HA memerlukan sel darah merah ayam, kalkun, manusia golongan darah O atau marmot (WHO, 2011). Potensi aktivitas antivirus dapat ditunjukkan salah satunya dengan penurunan nilai titer HA. Apabila suatu senyawa dapat menghambat replikasi virus maka akan terjadi penurunan titer HA (Chattopadhyay *et al.*, 2009). Menurut WHO (2011) virus influenza A dengan titer dibawah  $2^4$  sudah tidak bersifat menular.

Indonesia adalah negara tropis dengan keanekaragaman hayati yang tinggi. Hal ini dapat dimanfaatkan sebagai sarana penemuan antivirus baru. Penelitian mengenai khasiat obat dari tanaman-tanaman yang ada di Indonesia telah dilakukan. Salah satu tanaman yang telah terbukti memiliki banyak khasiat pengobatan adalah buah dari *Momordica charantia* L. atau di Indonesia biasa disebut buah pare/paria.

Buah *Momordica charantia* L. adalah suatu sayuran yang termasuk dalam famili Cucurbitaceae. Tanaman ini banyak dibudidayakan di daerah Asia dan Africa dan dikenal dengan nama *bitter melon* atau *bitter gourd*. Secara tradisional *M. charantia* L. digunakan untuk pengobatan beberapa penyakit antara lain sebagai antidiabetes, antitumor, antimalaria dan antivirus (Grover and Yadav, 2004). *M. charantia* L. berpotensi digunakan sebagai antivirus influenza karena protein dari tanaman ini terbukti poten menghambat beberapa jenis virus, termasuk virus hepatitis B, virus dengue, virus herpes simplex dan HIV (Pongthapisith *et al.*, 2013). Di Indonesia, secara turun-temurun, tanaman pare juga banyak dimanfaatkan sebagai antivirus, untuk mengobati penyakit hepatitis, demam, dan campak (Bawa, 2009).

Protein biji dari buah segar *M. charantia* L. telah dibuktikan memiliki aktivitas anti-HIV-1, antivirus influenza A/New Caledonia/20/99 H1N1, A/Fujian/411/01 H3N2 dan A/Thailand/1(KAN-1)/2004 H5N1 (Pongthapisith *et al.*, 2013). Senyawa bioaktif pada *M. charantia* L. yang memiliki aktivitas antivirus influenza diharapkan juga diperoleh pada bagian buah *M. charantia* L. yang telah dikeringkan, sehingga ekstrak metanol buah *M. charantia* L. diharapkan akan memiliki aktivitas antivirus terhadap influenza A subtipe H1N1.

## BAHAN DAN METODE

**Bahan Tanaman.** Tanaman *Momordica charantia* diperoleh dan diterminasi di Balai Materia Medika Batu

**Virus dan Telur Ayam Berembrio.** Virus influenza yang digunakan adalah virus influenza A subtipe H1N1 pandemi-2009 dari Laboratorium *Avian Influenza Research Center* (AIRC) di Universitas Airlangga. Virus ditumbuhkan pada *embryonated chicken egg* atau telur ayam berembrio (TAB) yang bersifat SAN (*Serum Antibody Negative*) yang diperoleh dari Pusat Veterinari

Farma, Surabaya. Uji hemaglutinasi (HA) dilakukan menggunakan sel darah merah ayam.

**Bahan Kimia.** Metanol teknis (Brataco), Tablet *Phosphate Buffer Saline* (PBS) (GIBCO), Dimetilsulfoksida (DMSO) (Merck), *Sterile Water For Irrigation U.S.P.* (Otsuka), *red blood cell* (RBC) ayam, larutan antibiotik Penisilin-Streptomisin (Gibco). Zanamivir (GlaxoSmithKline).

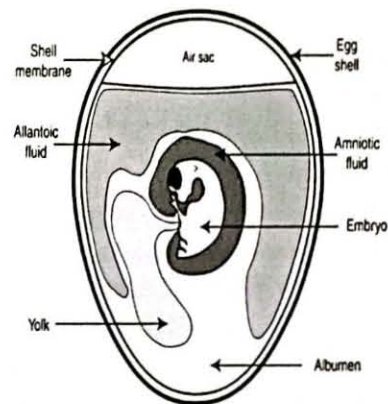
**Alat.** Timbangan analitik (Ohaus), otoklaf (HL-340), *Biosafety cabinet* (NuAire), incubator, mikropipet (Eppendorf), alat-alat gelas, *V bottomed 96-well plate* (Coastar), Sentrifus (Tommy), *refrigerator 4°C* (Sanyo), *freezer -80°C*, Vortex (Barstead Thermolyne), spuit injeksi 1 dan 3mL, corong Buchner (Schott), *rotary evaporator* (Buchi).

**Pembuatan Ekstrak Metanol Buah *Momordica charantia* L.** Buah *Momordica charantia* L. yang telah dicuci bersih dan dikeringkan, diambil bagian eksokarpium beserta mesokarpiumnya, kemudian dipotong-potong tipis, diangin-anginkan supaya mengering di tempat yang tidak lembab dan tidak terkena sinar matahari secara langsung. Pengeringan berakhir saat berat pare kering sudah konstan. Pengecilan ukuran partikel simplisia menggunakan *blender* dan kemudian diayak. Simplisia serbuk buah pare diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol selama 3 hari, dengan penggantian pelarut setiap 1 hari sekali. Hasil ekstraksi disaring menggunakan corong Buchner yang divakum. Penguapan solven menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga didapatkan ekstrak kental.

**Uji Toksisitas dan Penentuan Konsentrasi Ekstrak Metanol Buah *Momordica charantia* L.** Penentuan konsentrasi larutan ekstrak buah *Momordica charantia* L. yang tidak toksik untuk TAB. Pengujian dilakukan menggunakan beberapa konsentrasi (1000 ppm; 500 ppm; 250ppm; 125ppm; dan 62,5ppm) yang diperoleh dari hasil pengenceran ekstrak sebelumnya. Setiap konsentrasi diambil 100µL dan diinjeksikan bersama dengan 50µL larutan Penisilin-Streptomisin (10.000U/mL) ke dalam 3 butir TAB. Kemudian TAB diinkubasi selama 3x24 jam dalam inkubator dengan suhu 37°C dan diamati setiap 1x24 jam. Apabila terjadi kematian 1-3 embrio pada suatu konsentrasi, maka konsentrasi tersebut selanjutnya tidak digunakan.

**Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Buah *Momordica charantia* L. pada Telur Ayam Berembrio (TAB).** TAB yang baru datang didesinfeksi dengan alkohol 70%, posisi TAB pada tempatnya adalah dengan ujung yang lebih lancip di bagian bawah. Segera setelah proses desinfeksi TAB diperiksa dengan bantuan *egg candler* untuk memisahkan TAB yang masih hidup dan sudah mati, bersamaan dengan itu TAB diberi tanda batas antara rongga udara dan isi telur dengan pensil. Injeksi dilakukan pada cairan *allantois* TAB, sehingga perlu diberi penandaan untuk lubang tempat injeksi virus dan larutan ekstrak. Lubang ini berjarak lebih kurang 3-5 mm

dari batas rongga udara, tidak boleh terlalu dekat dengan embrio dan tidak boleh pada daerah yang penuh dengan pembuluh darah. Lubang dibuat dengan alat yang steril di dalam *biosafety cabinet*. Virus yang akan digunakan untuk uji aktivitas harus memiliki titer antara  $2^7$  sampai  $2^{11}$ .



**Gambar 3.1** Anatomi telur ayam berembrio (TAB) (Grimes, 2002)

**Dalam penelitian ini dilakukan 5 kelompok perlakuan, yaitu:**

**Kelompok 1:** Kontrol Positif: 100µL virus influenza A subtipe H1N1 pandemi-2009 + 100µL Zanamivir 10µM + 50 µL larutan Penisilin-Streptomisin (10.000U/mL)

**Kelompok 2:** Kontrol Negatif: 100µL virus influenza A subtipe H1N1 pandemi-2009 + 50µL larutan Penisilin-Streptomisin (10.000U/mL).

**Kelompok 3:** sebanyak 100µL virus influenza A subtipe H1N1 pandemi-2009 + 100µL larutan ekstrak buah *Momordica charantia* L. pada konsentrasi 62,5µg/mL + 50µL larutan Penisilin-Streptomisin (10.000U/mL)

**Kelompok 4:** sebanyak 100µL virus influenza A subtipe H1N1 pandemi-2009 + 100µL larutan ekstrak buah *Momordica charantia* L. pada konsentrasi 250µg/mL + 50 µL larutan Penisilin-Streptomisin (10.000U/mL)

**Kelompok 5.** sebanyak 100µL virus influenza A subtipe H1N1 pandemi-2009 + 100µL larutan ekstrak buah *Momordica charantia* L. pada konsentrasi 1000µg/mL + 50µL larutan Penisilin-Streptomisin (10.000U/mL) (masing-masing konsentrasi menggunakan 3 TAB, larutan ekstrak diinjeksikan 30 menit setelah larutan virus diinjeksikan) TAB yang sudah diberi perlakuan ditutup dengan selotip plastik. TAB disimpan dalam inkubator dengan suhu 37° C selama 3x24 jam. Setiap 1x24 jam TAB diamati embrionya menggunakan *egg candler*. Untuk embrio yang mati sebelum hari ketiga, dipisahkan kemudian disimpan dalam lemari pendingin 4°C selama semalam dan dipanen cairan *allantois*-nya pada keesokan harinya. Untuk embrio yang masih bertahan hingga hari ketiga, akan dimatikan dengan cara memindahkannya kedalam lemari pendingin 4°C selama semalam dan dipanen cairan *allantois*-nya. Cairan *allantois* yang telah dipanen kemudian disentrifus 3000 rpm selama 5 menit. Setelah disentrifus, akan terbentuk

dua bagian, yaitu bagian supernatan (cairan jernih) dan pelet (endapan). Selanjutnya supernatan diambil menggunakan mikropipet dan dilakukan uji HA (WHO, 2011).

**Uji Hemaglutinasi.** Uji HA menggunakan 0,5%, sel darah merah ayam dalam PBS, memakai *V-bottomed 96-well-plate* (WHO, 2011). Disiapkan 50µl PBS dalam semua sumuran, kecuali sumuran A, kemudian ditambahkan 100µl cairan *allantois* yang akan diuji kedalam sumuran A (1-12, 1 sampel/sumuran) dan setelah itu dilakukan pengenceran berseri dengan mengambil 50µl dari sumuran A ke B dan seterusnya hingga sumuran H, yang terakhir dibuang. Selanjutnya setiap sumuran diberi 50µl sel darah merah ayam 0,5%, digoyang-goyang supaya homogen, ditutup, dan diinkubasi pada lemari pendingin 4°C selama 30 menit. Nilai titer HA adalah pengenceran tertinggi dari virus

yang masih memperlihatkan hemaglutinasi sempurna. Hemaglutinasi sempurna adalah terjadinya endapan sel darah merah pada dasar sumuran. Hal ini menunjukkan tidak adanya partikel hemaglutinin pada sampel yang artinya tidak ada virus pada sampel tersebut. Titer HA adalah kebalikan dari pengenceran virus (WHO, 2011).

**Evaluasi hasil.** Hasil uji HA dihitung dari konsentrasi virus tertinggi yang menunjukkan adanya proses hemaglutinasi sempurna, yaitu adanya endapan sel darah merah pada dasar well. titer HA tersebut akan dibandingkan dengan titer HA pada kontrol virus. Dibuat persentase penurunan titer HA, hal ini akan menunjukkan kemampuan sampel uji dalam menghambat virus. Menurut Untari *et al.* (2012), rumus perhitungan persentase penghambatan antivirus adalah sebagai berikut:

$$\text{Persentase Penghambatan: } \frac{\text{rerata titer HA } (^2\text{Log } 2) \text{ tanpa perlakuan} - \text{rerata titer HA } (^2\text{Log } 2) \text{ dengan perlakuan}}{\text{rerata titer HA } (^2\text{Log } 2) \text{ tanpa perlakuan}}$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Hasil Uji Toksisitas Ekstrak terhadap Telur Ayam Berembrio (TAB).** Uji toksisitas yang dilakukan dengan menginokulasikan larutan ekstrak buah *M.charantia* L. konsentrasi 1000; 500; 250; dan 62,5ppm sebanyak 100 µL melalui cairan alantois pada TAB, masing-masing kelompok terdiri dari 3 buah TAB. Kemudian TAB diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam dan diamati setiap 24 jam. Hasil pada tabel 4.1 menunjukkan pada konsentrasi tertinggi yaitu 1000ppm ekstrak tidak menimbulkan kematian pada embriyo ayam.

**Tabel 4.1.** Hasil uji toksisitas larutan ekstrak metanol buah *M.charantia* L.pada TAB

Perlakuan	Waktu Inkubasi (jam ke-)								
	24			48			72		
	TAB ke-1	TAB ke-2	TAB ke-3	TAB ke-1	TAB ke-2	TAB ke-3	TAB ke-1	TAB ke-2	TAB ke-3
1000 ppm	+	+	+	+	+	+	+	+	+
500 ppm	+	+	+	+	+	+	+	+	+
250 ppm	+	+	+	+	+	+	+	+	+
125 ppm	+	+	+	+	+	+	+	+	+
62,5 ppm	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**Keterangan.** (+): TAB Hidup

**Hasil Uji HA pada Virus Influenza A Subtipe H1N1 Pandemi-2009.** Data hasil uji HA pada TAB yang telah diberi 5 perlakuan dengan virus influenza A subtipe H1N1 pandemi-2009 dan ekstrak metanol buah *M.charantia* L. dicantumkan dalam tabel 4.2 sebagai berikut:

**Tabel 4.2.** Hasil uji HA pada uji aktivitas terhadap virus influenza A subtipe H1N1 pandemi-2009

Perlakuan	Titer HA (HAU)			Rerat a Titer HA	Rerata Titer HA ( <sup>2</sup> log 2)
	TAB ke-				
	1	2	3		
1	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	0
2	2 <sup>4</sup>	2 <sup>7</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>5,3</sup>	5,3
3	2 <sup>3</sup>	2 <sup>3</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>3,3</sup>	3,3
4	2 <sup>5</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>4,7</sup>	4,7
5	2 <sup>2</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>1,3</sup>	1,3

### Keterangan.

Perlakuan 1: virus H1N1 pandemi-2009 + Zanamivir 10 µM

Perlakuan 2: virus H1N1 pandemi-2009

Perlakuan 3: virus H1N1 pandemi-2009 + ekstrak *M.charantia* L. 62,5 ppm

Perlakuan 4: virus H1N1 pandemi-2009 + ekstrak *M.charantia* L. 250 ppm

Perlakuan 5: virus H1N1 pandemi-2009 + ekstrak *M.charantia* L. 1000 ppm

**Tabel 4.3.** Persentase penghambatan terhadap virus influenza A subtipe H1N1 pandemi-2009

Perlakuan	Persentase Penghambatan (%)
1	100
2	0
3	37,7
4	11,3
5	75,5

**Keterangan.**

Perlakuan 1: virus H1N1 pandemi-2009 + Zanamivir 10 µM

Perlakuan 2: virus H1N1 pandemi-2009

Perlakuan 3: virus H1N1 pandemi-2009 + ekstrak *M.charantia* L. 62,5 ppm

Perlakuan 4: virus H1N1 pandemi-2009 + ekstrak *M.charantia* L. 250 ppm

Perlakuan 5: virus H1N1 pandemi-2009 + ekstrak *M.charantia* L. 1000 ppm

Dari tabel 4.3 diatas dapat dilihat pada perlakuan 1 (kontrol positif) memiliki penghambatan terbesar, yaitu 100%. Pada perlakuan 3 penghambatan yang terjadi sebesar 37,7%, penghambatan pada perlakuan 4 adalah sebesar 11,3%, dan pada perlakuan 5 terjadi penghambatan terbesar dari ekstrak metanol buah *M.charantia*, yaitu sebesar 75,5%.

Pemberian antivirus merupakan salah satu upaya untuk mengobati infeksi virus influenza A, disamping pencegahan melalui vaksinasi. Saat ini terdapat dua golongan obat antivirus influenza, yaitu golongan *adamantane* dan inhibitor neuraminidase (Emmeluth, 2003). Namun pengendalian infeksi virus influenza A menggunakan antivirus mulai mengalami kendala karena munculnya *strain* baru yang resisten terhadap antivirus yang sudah ada (Pleschka *et al.*, 2009). Salah satu alternatif yang dilakukan untuk mengatasi masalah ini adalah menggunakan antivirus herbal. Antivirus herbal mampu memberikan penghambatan yang luas terhadap beberapa *strain* virus sekaligus, karena kemampuannya dalam menginaktivasi langsung maupun menghambat satu atau lebih tahap-tahap penting replikasi virus. Selain itu, antivirus herbal sering menunjukkan berbagai macam bioaktivitas (Pleschka *et al.*, 2009).

Dalam penelitian ini digunakan buah *Momordica charantia* L. yang termasuk dalam famili Cucurbitaceae. Protein biji dari buah segar *M. charantia* L. telah terbukti memiliki aktivitas anti-HIV-1, antivirus influenza A/New Caledonia/20/99 H1N1, A/Fujian/411/01 H3N2 dan A/Thailand/1(KAN-1)/2004 H5N1 (Pongthanapisith *et al.*, 2013). Menurut penelitian sebelumnya, buah *Momordica charantia* L. atau yang biasa disebut buah pare mengandung bermacam-macam senyawa bioaktif,

antara lain golongan glikosida, saponin, alkaloid, minyak atsiri, triterpena, protein dan steroid (Grover *and* Yadav, 2004). Selain itu ditemukan juga senyawa-senyawa golongan fenolik dengan berat molekul kecil (WHO, 2005).

Beberapa golongan senyawa fitokimia telah diteliti memiliki aktivitas antivirus dengan mekanisme yang bermacam-macam. Mekanisme antivirus dari beberapa golongan senyawa fitokimia tersebut, antara lain protein dapat menghambat fungsi ribosom sel yang terinfeksi dan menghambat sintesis protein virus, alkaloid melalui penghambatan pembentukan polinukleotida dan sintesis protein virus, triterpena diduga dapat menghambat virus secara langsung dan mencegah pelekatan virus pada sel inang, polifenol menghambat melalui inaktivasi langsung virus dan/atau mencegah pelekatan virus pada sel inang dan flavonoid melalui blokade sintesis RNA virus (Jassim *and* Naji, 2003). Penelitian lain menyebutkan bahwa flavonoid, polifenol dan alkaloid memiliki aktivitas sebagai inhibitor NA pada virus influenza A (Rakers *et al.*, 2014). Sebuah penelitian lainnya membuktikan bahwa minyak atsiri yang termasuk golongan terpenoid memiliki aktivitas antivirus terhadap virus *avian influenza* H5N1, tetapi mekanismenya belum diteliti lebih lanjut (Untari *et al.*, 2012).

Beberapa senyawa dari golongan senyawa tersebut telah terbukti memiliki aktivitas antivirus, di antaranya adalah putranjivain A, termasuk golongan tanin, yang mampu mencegah pelekatan dan penetrasi virus, glisirizin yang termasuk golongan triterpena juga mampu menghambat virus dengan mekanisme yang sama (Li *and* Peng, 2012). Senyawa yang memiliki aktivitas antiinfluenza adalah arktigenin (steroid) yang mampu menghambat HA, oligonol (polifenol) mampu mencegah pelekatan virus pada sel, dan isoramnetin (flavonoid) mampu menghambat HA dan NA sekaligus (Li *and* Peng, 2012; Dayem *et al.*, 2015).

Buah *M. charantia* L. telah terbukti memiliki aktivitas antivirus. Senyawa alfa dan beta momorkarin yang terkandung dalam buah *M. charantia* L. diketahui memiliki aktivitas anti-HIV secara *in vitro*. Senyawa lainnya, yaitu lektin mampu menghambat enzim *reverse transcriptase* virus (Grover *and* Yadav, 2004). Momordisin I dan kuguasin J menunjukkan aktivitas terhadap virus influenza A melalui penghambatan NA secara *in vitro*, sedangkan kukurbitin teridentifikasi dapat menggeblok saluran ion M2 virus secara *in silico* (Ikram *et al.*, 2015; Li *and* Peng, 2012).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan ini, ekstrak metanol buah pare terbukti memiliki aktivitas antivirus terhadap virus influenza A subtipe H5N1 dan H1N1 pandemi-2009. Aktivitas tersebut dapat dikaitkan dengan adanya bukti bahwa beberapa senyawa dalam buah *M. charantia* L. memiliki aktivitas antivirus terhadap virus HIV dan influenza A. Selain itu, beberapa golongan senyawa yang sama dengan golongan senyawa yang terdapat dalam buah *M. charantia* L. juga terbukti



memiliki aktivitas antivirus, khususnya aktivitas antiinfluenza.

Uji aktivitas pada virus influenza A subtipe H1N1-pandemi 2009 ini juga dilakukan dengan cara menginjeksikan virus 30 menit sebelum Zanamivir maupun ekstrak metanol buah *M. charantia* L. Hasil persentase penghambatan antivirus ekstrak buah pare lebih rendah dibandingkan kontrol positif. Karena ekstrak buah *M. charantia* L. adalah *multi compound* yang tidak semua kandungannya diketahui (Jassim and Naji, 2003). Selain itu senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antiinfluenza seperti momordisin I, kuguasin J, dan kukurbitin terdapat dalam kadar yang rendah. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui secara pasti mengenai kadar ketiga senyawa tersebut dalam ekstrak metanol buah *M. charantia* L..

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah *Momordica charantia* L. memiliki aktivitas antivirus terhadap virus influenza A subtipe H1N1 pandemi-2009. Selain itu beberapa penelitian sebelumnya menyebutkan adanya aktivitas senyawa-senyawa dari buah *M. charantia* L. aktif sebagai inhibitor neuraminidase virus influenza A H5N1 (Ikram et al., 2015; Li and Peng, 2012). Sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan metode lain untuk mengetahui secara pasti mekanisme dan efektivitas ekstrak buah *M. charantia* L. terhadap virus influenza A.

**Kesimpulan.** Ekstrak metanol buah *Momordica charantia* L. memiliki aktivitas penghambatan terhadap virus influenza A subtipe H1N1 pandemi-2009.

**Ucapan terimakasih.** Penulis mengucapkan terimakasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah membiayai penelitian ini melalui program RKAT tahun 2014.

#### PUSTAKA

- Bawa IGAG, 2009. Isolasi dan identifikasi golongan senyawa toksik dari daging buah pare (*Momordica charantia* L.). *Jurnal Kimia*. 3 (2): 117-124.
- Blanton L, Brammer L, Finelly L, Grohskopf L, Bresee J, Klimov A, Cox N, 2011. Chapter 6: Influenza. *VPD Surveillance Manual*. 5th Edition.
- Chattopadhyay D, Sarkar MC, Chatterjee T, Dey RS, Bag P, Chakraborti S, Khan MTH, 2009. Recent advancements for the evaluation of anti-viral activities of natural products. *New Biotechnology*. Vol. 25, No. 5:347-368.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2009. Tambahan 15 kasus baru positif influenza A H1N1. <http://www.depkes.go.id/article/view/327/tambahan-15-kasus-baru-positif-influenza-a-h1n1.html> Diakses 18 Oktober 2014.
- Dayem AA, Choi HY, Kim YB, Cho SG, 2015. Antiviral effect of methylated flavonol isorhamnetin against influenza. *PLOS ONE*. 10 (3).
- Dharmayanti NLPI, Hewajuli DA, Ratnawati AK, Indriani R, Darminto, 2010. Karakter genetik protein

- membran virus avian influenza subtipe H5N1. *JITV*. 15 (3): 231-239.
- Ehrhardt C, Hrincius RH, Korte V, Mazur I, Droebner K, Poetter A, Dreschers S, Schmolke M, Planz O, Ludwig S, 2007. A polyphenol rich plant extract, CYSTUS052, exerts antiinfluenza virus activity in cell culture without toxic side effects or the tendency to induce viral resistance. *Antiviral Research*. 76:38-47.
- Emmeluth D, and Alcamo IE (Eds.), 2003. *Deadly Diseases and Epidemics Influenza*. New York: Chelsea House. pp. 15-21.
- Grimes SE, 2002. *A Basic Laboratory Manual for the Small-Scale Production and Testing of I-2 Newcastle Disease Vaccine*. Bangkok: FAO Regional Office of Asia and the Pacific. p. 29, 129.
- Grover JK, Yadav SP, 2004. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia* L.: a review. *Journal of Ethnopharmacology*. 93:123-132.
- Ikram NKK, Durrant JD, Mughtaridi M, Zalaludin A, Purwitasari N, Mohamed N, Rahim ASA, Chan KL, Normi YM, Rahman NA, Amaro RE, Wahab H, 2015. A virtual screening approach for identifying plants with anti H5N1 neuraminidase activity. *Journal of Chemical Information and Modelling*. p. 1-25.
- Jassim SAA, Naji MA, 2003. Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective. *Journal of Applied Microbiology*. 95: 412-427.
- Krisnawan AH, 2011. Aktivitas antivirus hasil fermentasi *Streptomyces* spp. Terhadap virus influenza pandemi H1N1-2009. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.
- Li T, Peng T, 2012. Traditional Chinese herbal medicine as a source of molecules with antiviral activity. *Antiviral Research*. 97 (2013): 1-9.
- Mahardika IGK, Sukada IM, Antara MS, Suartini NGAA, 2008. Motif sekuens asam amino pembentuk kantong pengikat Oseltamivir pada protein neuraminidase virus avian influenza (H5N1) asal manusia dan hewan di Indonesia. *Jurnal Veteriner*. Vol. 9, No. 4: 204-206.
- Pongthanapisith V, Ikuta K, Puthavathana P, Leelamanith W, 2013. Antiviral protein of *Momordica charantia* L. inhibits different subtypes of Influenza A. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. pp:1-6.
- Pleschka S, Stein M, Schoop R, Hudson JB, 2009. Antiviral properties and mode of action of standardized *Echinacea purpurea* extract against highly pathogenic avian Influenza virus (H5N1, H7N7) and swine-origin H1N1 (S-OIV). *Virology Journal*. 6:197.
- Radji M, 2006. Avian influenza A (H5N1): patogenesis, pencegahan dan penyebaran pada manusia. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 3:55-65.
- Rakers C, Schwerdtfeger SM, Mortier J, Duwe S, Wollf T, Wolber G, Melzig MF, 2014. Inhibitory potency of flavonoid derivatives on influenza virus

- neuraminidase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 24: 4312-4317.
- Untari T, Widyarini S, Wibowo MH, 2012. Aktivitas antiviral minyak atsiri jahe merah terhadap virus flu burung. *Jurnal Veteriner*. Vol 13, No. 3: 309-312.
- Wang JX, Zhou JY, Yang QW, Chen Y, Li X, Piao YA, Li HY, 2008. An improved embryonated chicken egg model for the evaluation of antiviral drugs against influenza A virus. *Journal of Virological Method*. 153:218-222.
- World Health Organization. 2005. *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants*. Vol. 4. Salerno-Paestum: WHO Press. p. 192-209.
- World Health Organization, 2011. *WHO Manual for the Diagnosis and Virological Surveillance of Influenza*. Department of Communicable Disease Surveillance and Respons WHO.
- World Health Organization, 2014. *Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A(H5N1) reported to WHO, 2003-2014*.