

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK DAUN *Vitex trifolia* TERHADAP
PERTUMBUHAN VIRUS INFLUENZA A SUBTIPE H1N1
PANDEMIK 2009**



ARINA HAYATI

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN FARMAKOLOGI DAN FITOKIMIA**

SURABAYA

2015

Lembar Pengesahan

**PENGARUH EKSTRAK DAUN *Vitex trifolia* TERHADAP
PERTUMBUHAN VIRUS INFLUENZA A H1N1 PANDEMIK
2009**

SKRIPSI

**Dibuat Untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Farmasi
Pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya
2015**

Oleh:

**ARINA HAYATI
NIM 051111050**

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta

Neny Purwitasari, M.Sc., Apt.

NIP. 198004192006042001

Dr. Kadek Rachmawati, drh., M.Kes

NIP. 196807251997022001

#

ii

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul: PENGARUH EKSTRAK DAUN *Vitex trifolia* TERHADAP PERTUMBUHAN VIRUS INFLUENZA A SUBTIPE H1N1 PANDEMIK 2009 untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet, digital library Perpustakaan Universitas Airlangga atau media lain untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi skripsi/karya ilmiah saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 10 Desember 2015

Arina Hayati
NIM. 051111050

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan, bahwa sesungguhnya hasil skripsi/tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini menggunakan data fiktif atau merupakan hasil dari plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau ada pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 10 Desember 2015

Arina Hayati
NIM. 051111050

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi saya yang berjudul “PENGARUH EKSTRAK METANOL DAUN *Vitex trifoliai* TERHADAP PERTUMBUHAN VIRUS INFLUENZA A SUBTIPE H1N1 PANDEMIK 2009” yang merupakan salah satu syarat guna memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Dalam proses penyelesaian skripsi ini, saya mendapatkan banyak bantuan dari berbagai pihak baik secara moral dan material. Oleh karena itu pada kesempatan ini tak lupa peneliti menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Dr. Hj. Umi Athijah, MS., Apt. selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan untuk menyelesaikan perogram pendidikan S-1 Farmasi.
2. Prof. Dr. Sukardiman, Apt., MS., Ketua Departemen Farmakognosi dan Fitokimia yang telah memberikan kesempatan dalam penyelesaian skripsi ini.
3. Kepala Laboratorium *Avian Influenza Research Center (AIRC) BSL 3* Universitas Airlangga Prof. Dr. C.A. Nidom., drh. yang telah menyediakan saran dan fasilitas serta memberikan banyak masukan selama menyelesaikan skripsi ini.
4. Neny Purwitasari S.Farm., MSc., Apt., selaku pembimbing utama dan Dr. Kadek Rachmawati, drh.,MKes., selaku pembimbing serta, atas segala waktu, kesabaran, ketelitian, bimbingan serta masukan selama peneliti menyelesaikan skripsi ini.

5. Drs. Herra Studiawan, Apt., MS., Suciati, S.Si., M.Phil., PhD., Apt. dan Dra. Rakhmawati, Apt., M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan masukan hingga terselesaikan skripsi ini.
6. Orang tua (Bahtiar Effendy dan Fardiah), kakak (Siti Nurul Hapsari), adik (Atia Adjani), keluarga atas restu dan doa serta dukungannya sehingga saya dengan lancar menempuh pendidikan S1.
7. Prof. Dr. Sudjarwo, Apt., MS. Selaku dosen wali atas segala bimbingan dan perhatian selama menjalankan program pendidikan S1.
8. Seluruh staf pengajar Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas ilmu dan bimbingan yang diberikan selama ini.
9. Seluruh karyawan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga khususnya Ruang Praktikum Farmakognosi dan Fitokima Pak Iwan, Pak Jarwo Pak Lismo, Pak Prapto, Mbak Aini, Mas Eko yang telah membantu tenaga dan waktu selama menyelesaikan skripsi ini.
10. Endra Rakhmanda yang selalu mendukung dan memberikan semangat tiada henti sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
11. Teman-teman yang selalu mendukung Arlita, Ardian, Sofie, Alfiah, Tia, Herlina, Kartiko, Putri.
12. Teman CTM yang selalu saling membantu dan mendukung selama 4 tahun ini.
13. Tara Farah Diba dan Rani Widya Samara yang selalu ada hingga akhirnya menyelesaikan studi S1 ini.

14. Teman-teman Antivirus Arlita, Putri, Widya, Azziyan yang selalu ada untuk membantu, berjuang bersama, susah senang sedih dalam penelitian ini, akhirnya kita menyelesaikan semuanya dengan baik.
15. Arie Ferdiansyah dan Muhammad Aldiansyah yang telah membantu dan mengajari saya di detik-detik terakhir penulisan naskah.
16. Teman-teman anggota Lab. AIRC Universitas Airlangga (Mbak Vivin, Mbak Elsa, Ibu Ema, Mbak Ire, Mbak Is, Mas Yusuf, Ulvi, Mas Surip, dll) atas bantuannya selama ini.
17. Semua pihak yang secara langsung maupun tidak memberikan semangat dan bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini. Terima kasih untuk semuanya. Tidak ada satupun kebenaran dan kesempurnaan kecuali milik Allah SWT. Akhirnya, tugas akhir yang masih banyak kekurangan ini semoga bermanfaat.

Surabaya, 10 Desember 2015

Arina Hayati

RINGKASAN
PENGARUH EKSTRAK DAUN *Vitex trifolia* TERHADAP
PERTUMBUHAN VIRUS INFLUENZA A SUBTIPE H1N1
PANDEMIK 2009

Virus influenza termasuk dalam famili *Orthomyxoviridae* yang memiliki lima jenis, yaitu Virus Influenza A, Virus Influenza B, Virus Influenza C, Virus Thogoto, dan Virus Isa. Virus Influenza A merupakan virus RNA yang memiliki dua glikoprotein pada permukaannya yaitu hemagglutinin (HA) dan neuraminidase (NA). Virus influenza pandemik H1N1 2009 muncul dari pencampuran dua virus flu babi yaitu H1N2 North America dan H1N1 Eurasia. Virus ini menyebar dengan cepat di seluruh dunia dan menginfeksi manusia terutama anak-anak dan remaja. Obat yang ada pada saat ini yaitu oseltamivir, zanamivir, amantadin, dan rimantadin. Kemudian terjadi resistensi terhadap beberapa obat diatas sehingga dibutuhkan antivirus baru.

Beberapa tahun ini penelitian mengenai aktivitas antivirus dari bahan alam mengalami kemajuan. Banyak senyawa aktif fitokimia seperti flavonoid, terpenoid, organosulfur, liminoid, sulfida, polifenol, saponin, alkaloid, protein yang telah ditemukan memiliki efek terapeutik terhadap virus. Salah satu genus yang diteliti untuk antivirus adalah *Vitex*. Pada penelitian digunakan daun dari *Vitex trifolia* yang didapatkan dari UPT Materia Medica Batu.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas ekstrak metanol daun *Vitex trifolia* terhadap TAB dan aktivitas antivirus terhadap virus H1N1. Uji aktivitas antivirus memerlukan virus yang ditumbuhkan pada TAB dan dilanjutkan dengan uji HA untuk mengetahui titer virus.

Ekstrak daun *Vitex trifolia* dikeringkan kemudian serbuk daun dimaserasi dengan metanol selama 3x24 jam untuk mendapatkan ekstrak kental, yang selanjutnya dilakukan uji toksisitas ekstrak terhadap TAB dengan lima konsentrasi. Dari hasil uji toksisitas didapatkan seluruh konsentrasi ekstrak yang digunakan tidak toksik terhadap TAB dan tidak menimbulkan kematian embrio. Hasil uji toksisitas dipilih tiga konsentrasi untuk mewakili konsentrasi batas atas, tengah, dan bawah, untuk dilakukan uji aktivitas antivirus. Uji aktivitas antivirus dilakukan dengan menginokulasikan virus dan ekstrak ke dalam TAB lalu di inkubasi selama 72 jam dan dilihat kematian TAB setiap 24 jam. TAB mati dimasukan ke lemari pendingin, lalu dilakukan pemanenan cairan *allantois*. Hasil panen cairan *allantois* TAB dilakukan uji HA untuk menghitung titer HA virus.

Uji HA dilakukan menggunakan 0,5% RBC ayam. Dari uji HA didapatkan titer HA yang cenderung sama. Setelah itu dihitung persen penghambatan kemudian didapatkan data persen penghambatan yang datar kemudian menurun. Untuk konsentrasi 62,5 ppm sebesar 38,3%; 250 ppm 38,3%; dan 1000 ppm 33,33%.

Berdasarkan literatur senyawa flavonoid pada *Vitex trifolia* yaitu vitexin memiliki kemampuan menghambat neuraminidase. Oleh karena itu dilakukan *docking* vitexin dengan PBD-ID: 3B7E (kompleks neuraminidase dengan zanamivir) yang di *download* pada www.rscb.org. Dari hasil *docking* didapatkan vitexin dibandingkan dengan zanamivir sama-sama memiliki ikatan hidrogen pada Arginin 152 (*Arg 152*), Arginin 292 (*Arg 292*), Arginin 371 (*Arg 371*), Asam Aaspartat Asp 151, Tirosin 406 (*Tyr 406*). Berdasarkan *rerank score*, Vitexin memiliki *score* -95,6056 dan zanamivir -111,423. Semakin rendah (negatif) nilai *rerank score*, maka dapat dikatakan bahwa ikatan reseptor-ligan semakin stabil. dan dari hasil tersebut dapat dikatakan *Vitex trifolia* layak untuk diteliti lebih lanjut sebagai obat antivirus baru.

ABSTRACT
**The Effect of *Vitex trifolia* leaf to the Growth on H1N1 virus
Pandemic 2009**

In 1918 there was an A H1N1 influenza epidemic that was known as the Spanish Flu. That epidemic caused the death of 20 million people. In mid-April 2009 there was another epidemic of the same virus but of a different strain. In March 2015 31.156 people were reported positive H1N1 in India and 1.841 people died. a resistance to H1N1 antivirus has occurred, because of that, a new antivirus is need.

In this experiment five concentrations of the extract of *Vitex trifolia* leaf is used for a toxicity experiment in an embryonated chicken egg (ECE). After the toxicity experiment is done, an activity experiment is also done using the concentrations that do not cause toxicity to ECE.

The activity test used H1N1 pandemic 2009 virus with A/Indonesia/UNAIR-367/2010A strain. The virus and the extract are injected simultaneously into the allantoic space of ECE. After that the titer of the virus is calculated with a hemagglutinin test, after the ECE have been incubated for 72 hours at 37°C.

The result of the experiment showed the concentration of the chosen samples have a lower titer of virus compared to the control. After the HA test, docking is also done to one of the compounds in the *Vitex trifolia* leaf, Vitexin. PBD-ID: 3B7E (neuraminidase complex with zanamivir) is used. The results of the docking is Vitexin rerank score is almost the same as Zanamivir and three types of Arginine binded.

Keywords: H1N1 virus Pandemic 2009, *Vitex trifolia*, hemagglutinin test, docking

DAFTAR ISI

Halaman

JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERSETUJUAN KARYA ILMIAH	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN	viii
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tinjauan Tentang Tanaman <i>Vitex trifolia</i>	7
2.1.1 Identitas Tanaman.....	7
2.1.2 Sinonim dan Nama Daerah <i>Vitex trifolia</i>	7
2.1.3 Penyebaran <i>Vitex trifolia</i>	8
2.1.4 Morfologi <i>Vitex trifolia</i>	8
2.1.5 Kandungan <i>Vitex trifolia</i>	9
2.1.6 Manfaat <i>Vitex trifolia</i>	10
2.2 Tinjauan Tentang Ekstraksi	11
2.2.1 Definisi Ekstraksi	11
2.2.2 Definisi Ekstrak	12
2.2.3 Pembuatan Ekstrak	12
2.2.3.1 Pembuatan Serbuk Simplisia	12
2.2.3.2 Cairan Pelarut	13
2.2.3.3 Pemekatan/Penguapan	14
2.2.3.4 Pengeringan Ekstrak	14
2.2.3.5 Rendemen	14
2.2.4 Metode Ekstraksi	14
2.2.4.1 Ekstraksi Dengan Pelarut	14
2.2.4.2 Destilasi Uap	16
2.2.4.3 Cara Ekstraksi Lainnya	16
2.3 Tinjauan Tentang Virus	17

2.3.1 Virus	17
2.3.2 Virus Influenza	18
2.3.3 Virus Influenza Pandemi H1N1 2009	21
2.3.4 Replikasi Virus Influenza	22
2.4 Isolasi Virus Influenza	25
2.4.1 Madin-Darby Canien Kidney (MDCK) Sel	25
2.4.2 Telur Ayam Berembrio (TAB)	26
2.5 Antivirus Influenza	26
2.6 Uji Antivirus Influenza	28
2.6.1 Uji Hemaglutinin (HA)	28
2.7 Neuraminidase	28
2.8 <i>Molecular Docking</i>	29
2.8.1 Molegro <i>Virtual Docker</i> (MVD)	29
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	31
BAB IV METODE PENELITIAN	35
4.1 Variabel Penelitian	35
4.1.1 Variabel Bebas	35
4.1.2 Variabel Tergantung	35
4.1.3 Variabel Kontrol	35
4.2 Bahan	36
4.2.1 Sampel	36
4.2.2 Virus dan Media Pengujian	36
4.2.3 Bahan Kimia	36
4.3 Alat	36
4.4 Prosedur Kerja	37
4.4.1 Pembuatan Ekstrak daun <i>Vitex trifolia</i>	37
4.4.2 Pembuatan Larutan PBS	37
4.4.3 Pembuatan Larutan Induk Ekstrak 1000 ppm	38
4.4.4 Pengenceran Berseri Larutan Induk 1000 ppm	38
4.4.5 Uji Toksisitas dan Penentuan Konsentrasi Ekstrak	38
4.4.6 Inokulasi Pada TAB	39
4.4.7 Panen Virus	41
4.4.8 Tes Hemaglutinasi (HA)	42
4.4.8.1 Analisis Data Uji HA	42
4.4.9 <i>Docking</i> Protein Neuraminidase dengan Vitexin	44
BAB V HASIL PENELITIAN	47
5.1 Hasil Pembuatan Ekstrak dan Larutan Uji	47
5.2 Hasil Uji Toksisitas Pada TAB	48
5.3 Uji Aktivitas Antivirus Pada TAB	50
5.4 Hasil Uji Hemaglutinasi (HA)	51
5.5 Hasil Molegro <i>Virtual Docking</i>	54

BAB VI PEMBAHASAN.....	56
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	61
DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN.....	66

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Gen Influenza dan Fungsinya.....	21
Tabel 5.1. Berat Penimbangan Pembuatan Serbuk Simplisia	47
Tabel 5.2. Data Pembuatan Ekstrak Kental.....	47
Tabel 5.3. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak daun <i>Vitex trifolia</i> pada TAB	49
Tabel 5.4. Pengamatan Inokulasi Pada TAB.....	50
Tabel 5.5. Hasil Uji Hemaglutinasi (HA) dengan RBC ayam.....	52
Tabel 5.6. Presentase Penghambatan Tiap Perlakuan	53
Tabel 5.7. Ikatan Hidrogen Pada Protein dan <i>Rerank score</i>	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. <i>Vitex trifolia</i>	9
Gambar 2.2. Struktur Molekul dari Vitexin dan Casticin	10
Gambar 2.2. Virus Influenza	19
Gambar 2.3. Proses Replikasi Virus Influenza	25
Gambar 2.4. Struktur Amantadine dan Rimantadine	27
Gambar 2.5. Struktur Oseltamivir dan Zanamivir	27
Gambar 3.1. Kerangka Konsep	34
Gambar 4.1. Inokulasi Pada TAB	41
Gambar 4.2. Interpretasi Hasil Titrasi Uji HA 96 Well Plate	43
Gambar 4.3. Kerangka Operasional	46
Gambar 5.1. Grafik Persen Penghambatan Ekstrak <i>Vitex trifolia</i>	53
Gambar 5.2. Gambar 3D Protein dan Vitexin	54

DAFTAR SINGKATAN

DMSO	: Dimethyl Sulfoxide
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	: Food and Drug Administration
HA	: Hemagglutinin
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
IC ₅₀	: Inhibitory Concentration 50%
M	: Matriks
MDCK	: Madine Darby Canine Kidney
NA	: Neuraminidase
NP	: Nucleoprotein
NS	: Non Structural
PA	: Polymerase Acidic
PB	: Polymerase Basic
PBS	: Phosphate Buffered Saline
RBC	: Red blood Cell
RNA	: Ribonucleic Acid
RNP	: Ribonucleic Protein
S-OIV	: Swine-Origin Influenza Virus
TAB	: Telur Ayam Berembrio
USDA	: United States Department of Agriculture
UPT	: Unit Pelayanan Terpadu
WHO	: World Health Organization