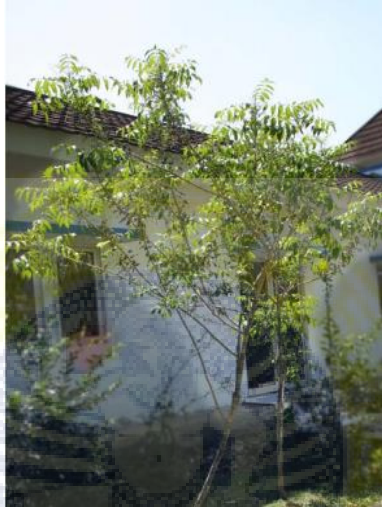


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan tanaman *Brucea javanica* (L.) Merr.



Gambar 2.1. Tanaman *Brucea javanica* (L.) Merr. (BPOM, 2008)

2.1.1. Klasifikasi tanaman *Brucea javanica* (L.) Merr.

Klasifikasi

- Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Sapindales
Suku : Simarubaceae
Marga : *Brucea*
Jenis : *Brucea javanica* (L.) Merr.
(BPOM, 2008)

2.1.2. Sinonim, nama umum dan nama daerah *Brucea javanica* (L.) Merr.

Sinonim : *Brucea sumatrana* Roxb.; *Brucea amarissima* Lour., *Gonus amarissimus* Lour., *Lussa amarissima* O. Ktze

Nama umum : Biji makasar, Kwalot

Nama daerah : Malur (Batak); Berul(Lampung); Walot (Sunda); Kwalot (Jawa); Tambara marica (Makasar); Nagas (Ambon) ; Ya dan Zi (China); Lada Pahit (Malaysia) (BPOM, 2008)

2.1.3. Morfologi tanaman *Brucea javanica* (L.) Merr.

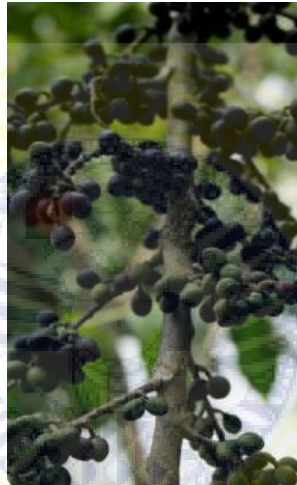
Perdu tegak, sangat pahit, tinggi 1-2,5 m. Daun menyirip tunggal ganjil, daun 5-13, sebagian besar berhadapan, bentuk lanset memanjang dengan ujung meruncing, 5,5-17,5 kali 2-7,5 cm. Bunga berkelamin satu atau dua, dalam malai sempit panjangnya 2-30 cm. Daun kelopak sangat kecil. Daun kelopak oval memanjang. Benang sari sebanyak daun mahkota, kepala sari tidak ada pada bunga betina. Putik pada bunga jantan rudimenter. Putik pada bunga yang berkelamin 2 atau bunga betina bakal buah 4 dan tangkai putik 4, lepas. Tonjolan penebalan dasar bunga jelas. Buah batu bulat memanjang, panjang kurang lebih 8 mm. Di semak dan pagar. 1-300 m (Steenis *et al.*, 1972).

2.1.4. Pemerian simplisia buah *Brucea javanica* (L.) Merr.

(*Brucea Fructus*)

Brucea javanica (L.) Merr. mempunyai nama lokal yaitu buah makassar atau tambara marica. Simplisianya yaitu *Brucea Fructus* yang memiliki bau agak asam dan rasa yang sangat pahit. Ciri makroskopis *Brucea Fructus* antara lain bentuk buah bulat atau bulat

telur, ujung buah agak tumpul, pada pangkal buah terdapat suatu lingkaran kecil. Permukaan buah tidak rata dengan keriput-keriput tidak beraturan seperti jala yang kasar, 2 rusuk yang membujur seperti untuk membelah buah menjadi dua, warna buah coklat muda, coklat kemerahan sampai kehitaman, panjang buah 4 mm sampai 7 mm, garis tengah buah 3mm sampai 6mm (Departemen Kesehatan RI, 1977).



Gambar 2.2. Buah *Brucea javanica* (L.) Merr. (BPOM, 2008)

2.1.5. Kandungan senyawa dalam *Brucea javanica* (L.) Merr.

Buah atau biji *Brucea javanica* (L.) Merr. banyak mengandung senyawa quassinoid. Beberapa senyawa quassinoid yang diketahui terkandung dalam *Brucea javanica* (L.) Merr. antara lain brucein A, B, C, D, E, F dan G, bruceoside A dan B, brusatol, bruceanine, dan brucamarin. Buah *Brucea javanica* (L.) Merr. tidak hanya memiliki kandungan quassinoid, terdapat juga beberapa kandungan lipid antara lain asam oleanat, asam linoleat, asam palmitat, asam stearat dan asam bruseat (Zhang *et al.*, 2013).

Ekstrak kloroform dari buah *Brucea javanica* (L.) Merr. mengandung beberapa senyawa yang diketahui antara lain bruceojavan 1, 2 dan 3, pinoresinol, kleomiskosin B, 7,8-epoksiglikan, dihidro dekoniferil alkohol, 7-hidroksi- larisiresinol, sekoisolarisiresinol, 4-metoksi-guaiasilglicerol, 7-karbonil-gaiasilglicerol, 4-hidroksi-3-metoksi asam benzoat dan 3,4-dihidroksi asam benzoat (Chen *et al.*, 2009).

Hingga saat ini senyawa yang telah diidentifikasi dari tanaman *Brucea javanica* (L.) Merr. ada 72 senyawa, termasuk 52 senyawa quassinoid, 9 triterpenoid, 5 glikosida pregnan, 2 sesquiterpen, 1 monoterpen, 1 lignan (Dong *et al.*, 2013).

2.1.6. Penggunaan dan aktivitas biologis *Brucea javanica* (L.)

Merr.

Buah makassar (*Brucea javanica* (L.) Merr.) telah lama dikenal untuk pengobatan tradisional di Cina terbukti bahwa tanaman ini terdaftar dalam buku kompendia materia medika Cina yang ditulis pada masa dinasti Ming. Buah makassar telah dipergunakan dalam pengobatan tradisional cina untuk mengobati penyakit kanker, disentri dan malaria. Buah makassar termasuk bahan yang memiliki karakteristik dingin dan rasa yang pahit, hal ini menjadi landasan dalam pengobatan cina bahwa buah ini memiliki efek antipiretik, penetral racun, dan banyak digunakan untuk terapi kanker tenggorokan, prostat dan saluran cerna, serta memiliki efek poten antimalaria, antiinflamasi, dan antivirus (Chen *et al.*, 2012). Buah makassar juga digunakan secara tradisional untuk pestisida karena ekstrak daun, batang, dan buahnya diketahui bersifat toksik untuk beberapa hama tanaman (Zhang *et al.*, 2013). Buah *Brucea javanica* (L.) Merr. di Malaysia dikenal sebagai lada pahit karena

rasanya yang pahit, di Malaysia buah makassar digunakan oleh pengobat tradisional untuk terapi diabetes (NoorShahida *et al.*, 2009).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengetahui senyawa yang memiliki aktivitas biologis dalam buah makassar. Salah satu aktivitas yang dimiliki senyawa dalam buah makassar adalah antivirus terhadap *tobacco mosaic virus* (TMV). Bruceojavan 1 dan 3,7-hidroksi-larisiresinol, sekoisolarisiresinol dan 3,4-dihidroksi asam benzoat yang terdapat dalam ekstrak kloroform buah makassar dan senyawa quassinoid brucein D telah diteliti memiliki aktivitas menghambat replikasi *tobacco mosaic virus* (TMV) (Chen *et al.*, 2009). Buah makassar telah digunakan sebagai antivirus untuk mengatasi *human papilloma virus* (HPV) terbukti dari uji klinik yang telah membuktikan infusa buah makassar dapat digunakan untuk terapi *vulvar condylomata* yaitu suatu tonjolan pada kulit yang disebabkan oleh virus HPV (Chen *et al.*, 2012). Bruceine E, dan D yang terdapat pada buah makassar memiliki aktivitas menurunkan kadar gula darah pada mencit dengan kadar gula normal dan tikus yang telah diinduksi streptozotocin (NoorShahida *et al.*, 2009). Aktivitas antikanker yang dimiliki buah makassar dibuktikan karena beberapa kandungan dalam buah makassar salah satunya kandungan quassinoid brusatol yang diteliti memiliki aktivitas menghambat proliferasi dan diferensiasi sel (Zhang *et al.*, 2013). Quassinoid lain yang dikandung oleh buah makassar yaitu brucein A dan D diteliti memiliki aktivitas menghambat parasit *Dactylogyrus intermedius* (Wang *et al.*, 2010).

2.2. Tinjauan tentang ekstrak

2.2.1. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan sari pekat tumbuh-tumbuhan atau hewan yang diperoleh dengan cara melepaskan zat aktif dari bahan menggunakan pelarut-yang sesuai , kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dengan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi standar yang ditetapkan (DepKes RI, 2000).

2.2.2. Metode ekstraksi

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibagi menjadi dua cara, yaitu cara dingin dan cara panas. Cara dingin dibagi menjadi dua yaitu maserasi dan perkolasi. Cara panas meliputi cara refluks, soxhlet dan infus.

Maserasi adalah proses pengekstraksian simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah maserasi pertama dan selanjutnya.

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terjadi dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan atau penampungan ekstrak) terus menerus sampai diperoleh ekstrak perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan karena adanya pendingin balik.

Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. (DepKes RI, 2000)

2.3. Tinjauan virus influenza

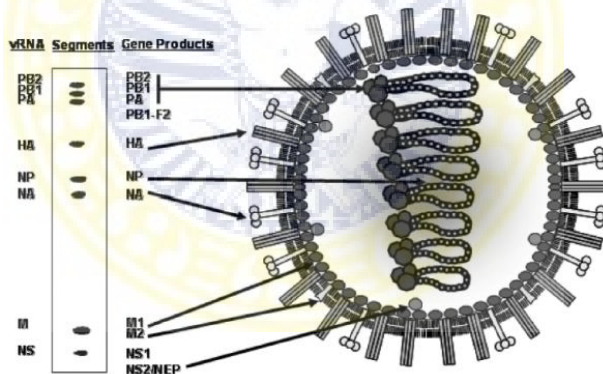
2.3.1. Struktur molekular virus influenza

Virus influenza memiliki bentuk *spherical* dengan diameter 80-120 nm (Sfakianos, 2009). Virus influenza merupakan virus RNA dengan strand negatif dan memiliki *envelope* dan hanya dapat berkembangbiak pada inang vertebrata. Virus yang merupakan virus dari family orthomyxoviridae ini dibagi menjadi beberapa tipe yaitu tipe A, B, dan C. Virus influenza spesifik menyerang sel pada saluran respirasi, hal ini terjadi karena adanya molekul reseptor pada *attachment site* dari sel inang yang sangat cocok dengan molekul yang menonjol pada permukaan virus. (Emmeluth, 2003)

Virus secara umum terdiri dari komponen umum yang terdiri dari protein kapsid dan komponen asam nukleat yang disebut sebagai genom. Genom pada virus dapat berupa DNA atau RNA. pada satu jenis virus hanya mengandung salah satu, DNA atau RNA saja. DNA atau RNA ini dilapisi oleh suatu protein yang dinamakan kapsid. Kapsid disusun oleh subunit protein yang bernama kapsomer. Virus yang hanya terdiri dari genom dan kapsid dinamakan nukleokapsid. Beberapa virus memiliki tambahan lapisan yang berada paling luar yang dikenal sebagai *envelope*.

Virus influenza merupakan virus yang memiliki *envelope*. Bagian *envelope* ini terdiri dari *lipid bilayer* yang disusun oleh protein yang dikenal sebagai matriks protein dan lipid, kombinasi ini sering disebut juga sebagai membran matriks protein. Permukaan bagian luar dilapisi oleh suatu *spike* atau tanduk yang tersusun dari glikoprotein yang menempel pada *envelope* (Emmeluth, 2003).

Glikoprotein merupakan komponen yang menonjol keluar dari dinding permukaan virus. Ada dua jenis glikoprotein penting pada virus influenza yaitu hemagglutinin (HA) dan neuraminidase (NA). Kedua glikoprotein ini memiliki fungsi penting untuk transfer virus dalam tubuh inang, dari satu sel ke sel lainnya. Glikoprotein ini merupakan bagian yang berada paling luar dan paling mudah dideteksi antibodi (Sfakianos, 2009).



Gambar 2.3. Struktur dan bagian virus influenza (Pleschka *et al.*, 2006).

Komponen materi genetik dari virus disebut juga sebagai genom. Virus influenza dibagi menjadi 3 tipe yaitu A, B, dan C. Perbedaan dari tiga tipe ini terletak pada susunan protein HA dan NA, genom yang dimiliki dan matriks protein. Genom dari tipe A

dan B terdiri dari delapan *single-stranded* RNA terpisah yang mengandung 10 gen. Tipe C terdiri dari tujuh segmen RNA. Setiap segmen RNA mengkode satu atau lebih protein virus (Emmeluth, 2003).

Tabel II.1. Struktur dan fungsi komponen virus (Pleschka *et al.*, 2006)

Segment	Protein	Fungsi
1	PB2	Subunit RNA polimerase virus, <i>cap-binding</i>
2	PB1	Subunit katalitik RNA polimerase virus
	PB1-F2	Aktivitas pro-apoptotik
3	PA	Subunit RNA polimerase virus
4	HA	Glikoprotein pada permukaan, <i>receptor binding</i> , fusi membran
5	NP	Nukleoprotein, enkapsidasi genom virus dan RNA antigenom
6	NA	Neuraminidase
7	M1	Matriks protein
	M2	Aktivitas kanal ion, melindungi konformasi HA
8	NS1	Regulasi aktivitas antagonis interferon RDRP virus, membantu translasi mRNA virus, Menghambat pemotongan pra-mRNA, poliadenilasi mRNA seluler, aktivitas PKR
	NS2	Faktor ekspor nuklear

Virus influenza A memiliki delapan segmen RNA yang masing masing mengkode komponen protein dalam virus yang berbeda. Virus influenza memiliki sembilan sampai sepuluh struktural protein virus. segmen 1-3 mengkode komponen virus yaitu

kompleks *RNA dependent RNA polymerase* (RDRP), PB2, PB1 dan PA yang seluruhnya berhubungan dengan kompleks ribonukleoprotein (RNP). PB1 pada virus influenza A memiliki a+1 *reading frame* yang mengkode protein PB1-F2. Komponen glikoprotein hemagglutinin (HA) dan neuraminidase (NA) dikode oleh segmen 4 dan 6 dari RNA. Segmen 5 mengkode nukleoprotein virus. Matriks komponen M1 ditranslasi oleh segmen 7 dan membentuk lapisan terdalam virion. Komponen viral transmembran yaitu M2 dibuat dari potongan mRNA, komponen ini berfungsi sebagai *pH dependant ion channel*. Komponen minor seperti NS1 dan *nuclear transport protein* NS2 / NEP yang berhubungan dengan komponen M1 dikode oleh segmen 8. (Pleschka *et al.*,2006)

2.3.2. Klasifikasi virus influenza

Virus influenza dapat dikelompokkan menjadi tiga tipe berdasarkan variasi pada kapsid virus. Variasi tersebut menyebabkan virus dapat dibagi menjadi 3 tipe antara lain tipe A, B dan C. Ada dua komponen spesifik pada kapsid virus yaitu nukleokapsid (NP) dan matriks (M) yang menjadi faktor penentu penggolongan tipe virus. Adanya perbedaan dari dua komponen tersebut berpengaruh pada kemampuan pengenalan virus oleh antibodi yang merupakan sistem imun pada inang. Komponen ini menjadi sangat penting yang menentukan spesies tertentu yang dapat menjadi target infeksi virus dan derajat keparahan penyakit yang ditimbulkan karenanya. Virus influenza tipe C merupakan virus yang terbatas menyerang manusia namun juga dilaporkan dapat menyerang babi. Virus ini menyebabkan gejala yang tidak parah dan tidak dapat menyebabkan pandemi serta epidemi. Virus influenza tipe B ditemukan umumnya menginfeksi manusia tidak dapat menimbulkan pandemi tetapi dapat

menyebabkan epidemi. Tipe influenza yang mempunyai inang yang luas yang dapat menginfeksi manusia, unggas, babi, kuda, singa laut dan paus dan yang dapat menyebabkan pandemi adalah influenza tipe A. Tipe ini menyebabkan penyakit yang fatal pada inang yang terinfeksi. Walaupun inang yang dapat terserang sangat luas, inang yang merupakan inang primer dari virus ini adalah unggas liar. Dalam tubuh unggas ini terjadi mutasi yang terjadi selama beberapa generasi dan perubahan yang terjadi pada virus ini berlangsung cukup cepat. Virus ini mengalami replikasi dengan cepat dan dapat menyebar keluar dari sel dalam waktu 6 jam. Siklus replikasi yang berlangsung dengan cepat menyebabkan sering terjadi kesalahan pada saat pengkopian materi genetik. Virion baru biasanya memiliki perbedaan dengan virion sebelumnya. Mutasi pada virus dapat menyebabkan perubahan pada epitop virus yang merupakan suatu bagian dari virus yang dikenali oleh antibodi. Adanya mutasi menyebabkan antibodi gagal mengenali virus kembali.

Influenza tipe A diklasifikasikan berdasarkan subtipe serologik dari glikoprotein permukaan primer pada virus, yaitu hemagglutinin (HA) dan neuraminidase (NA). Tipe HA memiliki 18 subtipe (H1-H18) dan mengandung epitop penetral sedangkan tipe NA terdiri dari 11 neuraminidase. Subtipe N dan H dapat membentuk suatu kombinasi ada 1114 kombinasi yang memungkinkan yang telah ditemukan pada beberapa spesies. Subtipe dari virus influenza tipe A diberi nama berdasarkan nomer subtipe dari hemagglutinin dan neuraminidase yang dimiliki virus tersebut (Spackman, 2008 ; Tong *et al*, 2011)

Virus influenza A yang memiliki beberapa subtipe dan telah diidentifikasi diberi nama dengan sistem yang spesifik. Penamaan

dimulai dengan lokasi geografik dimana strain tersebut pertama diisolasi kemudian diikuti dengan nomer identifikasi laboratorium, tahun penemuan dan tipe HA dan NA yang dimiliki strain virus. Contoh penamaan virus adalah A/Hong Kong/ 156/97/ (H5N1). Penomoran ini berguna untuk mempersiapkan vaksin yang sesuai untuk virus yang sedang mewabah (Emmeluth, 2003).

Virus Influenza A H5N1 telah banyak mengalami evolusi sehingga memiliki perbedaan filogenetik. Virus H5N1 dapat digolongkan berdasarkan filogenetik atau kelompok genetiknya, penggolongan ini biasa dikenal dengan istilah “*clade*” yang kemudian terbagi lagi menjadi beberapa “*subclade*”. Saat ini telah ditemukan 10 *clade* (0-9) dan beberapa *subclade* (Lockhart *et al.*, 2014). *Clade* 1 ditemukan persebarannya di Kamboja, Thailand dan Vietnam dan menyebabkan infeksi pada manusia di negara tersebut pada tahun 2004-2005. Virus *clade* 2 menyebar pada unggas di China dan Indonesia pada tahun 2003-2004 dan menyebar ke barat menuju wilayah Timur Tengah, Eropa dan Afrika menyebabkan infeksi pada manusia pada tahun 2005-2006. Sebanyak 6 *subclade* dari *clade* 2 telah diketahui, tiga diantaranya (*subclade* 1,2 dan 3) berbeda wilayah penyebaran dan menjadi penyebab kasus infeksi pada manusia di Indonesia, beberapa negara di Timur Tengah, Eropa, Afrika dan Cina (Uyeki, 2009).

2.3.3. Replikasi virus influenza

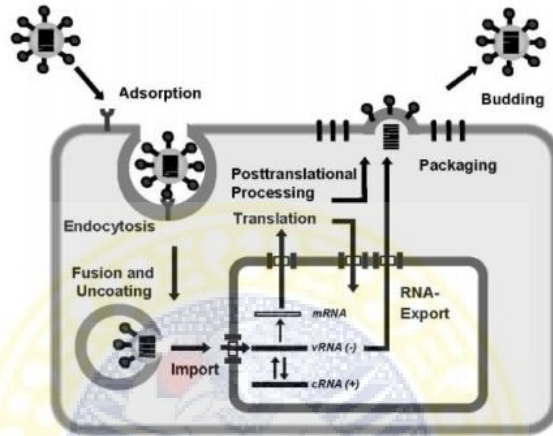
Infeksi virus pada sel inang berlangsung melalui beberapa tahapan yaitu pertama *adsorbtion* atau *attachment*, kemudian dilanjutkan *penetration*, *uncoating*, sintesis enzim, asam nukleat dan protein virus, *assembly*, *packaging* dan yang terakhir adalah *release* virus yang baru terbentuk.

Komponen glikoprotein virus yaitu HA, mengawali terjadinya pelekatan virus pada sel target pada saluran respirasi inang. HA melekat pada suatu molekul yang bernama asam sialat. Asam sialat ini merupakan turunan dari asam neuraminat dan merupakan bagian glikoprotein yang terikat pada membran sel inang (Emmeluth, 2003).

HA terdiri dari dua subunit yaitu HA1 dan HA2 yang merupakan hasil pembelahan dari HA0. Pada pH asam, konformasi HA berubah sehingga protein fusi aktif dalam HA2 keluar dan ketika bertemu dengan membran endosomal sel inang akan terjadi fusi envelope virus dengan membran sel. Pada pH asam juga terjadi aktivasi dari kanal ion M2 sehingga terjadi aliran proton ke dalam virion. RNA virus dan RNP dapat lepas ke sitoplasma dan bergerak ke nukleus sel inang (Pleschka *et al.*, 2006).

RNA virus kemudian mengalami replikasi dan transkripsi dengan adanya peran RDRP (*RNA dependant RNA polymerase*). Transkripsi dari RNA menghasilkan mRNA yang merupakan *template* untuk *complementary* RNA (cRNA), cRNA berfungsi sebagai *template* untuk RNA virus (Pleschka *et al.*, 2006). mRNA digunakan untuk pembuatan protein dan salinan dari genom virus. Virus menggunakan DNA sel inang untuk memproduksi mRNA kemudian melepas mRNA yang terbentuk untuk menjadi mRNA virus dengan penambahan sekuen yang disebut *caps*. Penambahan *caps* tersebut menyebabkan mRNA virus dapat bergerak ke sitoplasma dan menggunakan ribosom inang untuk memproduksi protein virus lainnya. Influenza tipe A menggunakan fungsi nukleus inang dengan cara yang berbeda. Dua dari segmen RNA virus mengandung informasi genetik yang membuat molekul mRNA dapat dibagi-bagi kembali. mRNA yang terbagi ini membuat sel dapat

memproduksi protein yang berbeda. Pembagian mRNA ini menyebabkan delapan segmen RNA dapat memproduksi hingga sepuluh mRNA. (Emmeluth, 2003).



Gambar 2.4. Proses replikasi virus influenza (Pleschka *et al.*,2006).

NS1 merupakan komponen yang menjadi faktor regulator di dalam sel inang. Protein NA, M2 dan prekursor HA (HA0) hasil sintesis ditransport menuju *rough endoplasmic retikulum* (RER) kemudian ke badan golgi dan mengalami beberapa perubahan. RER memisahkan beberapa bagian protein secara enzimatik. Bagian protein yang terpisah ini memberi sinyal ke membran RE, kemudian protein dibungkus oleh suatu lipid dalam RE dan dikirim ke badan golgi. Penambahan gula yang sesuai terjadi pada badan golgi sehingga terbentuk glikoprotein NA dan HA yang kemudian ditransfer menuju membran sel inang. NA, HA dan M2 yang tidak mengalami glikolisasi mengalami integrasi ke plasma membran sebagai trimer atau tetramer. M1 kemudian juga ikut bergabung menjadi bagian pada membran sel (Pleschka *et al.*,2006).

Glikoprotein HA dan NA, dengan komponen protein virus menjadi bagian dari *envelope* virus yang baru. RNA dan komponen protein lainnya bergerak mendekati membran dan terjadilah *budding*. Virion baru yang telah terbentuk siap meninggalkan sel inang. Sel inang perlahan mati karena gangguan sintesis berbagai molekul esensialnya. Pada permukaan membran sel inang masih terdapat asam sialat yang bila tidak dihilangkan dari membran sel inang akan menyebabkan virion lengket dan berlekatan satu sama lain dan dengan membran. Protein neuraminidase adalah enzim yang merusak asam sialat pada membran sel dan permukaan virion baru. Hilangnya asam sialat ini akan menyebabkan virus dapat meninggalkan sel inang untuk menginfeksi sel lainnya (Emmeluth, 2003).

2.3.4. Mutasi virus influenza

Virus influenza sering mengalami perubahan dengan adanya mutasi, *reassortment* dan rekombinasi. terdapat perubahan kecil pada sekuen genetik dari gen HA atau NA menyebabkan perubahan sekuen asam amino dari HA dan NA. Hal ini terjadi karena urutan dari sekuen asam amino yang menyusun protein akan menentukan protein apa yang akan diproduksi. Perubahan ini sering terjadi karena virus influenza merupakan virus RNA, yang sering mengalami kesalahan pada saat pengopian sekuen genetik menyebabkan adanya sekuen genetik yang baru. Sekuen genetik yang baru ini menyebabkan asam amino baru yang akan disusun menjadi protein. Kejadian perubahan yang bersambungan ini disebut juga sebagai *genetic drift*. Protein HA sangat berperan penting dalam merangsang sistem imun, sehingga apabila ada perubahan pada protein HA akan menyebabkan tubuh inang kehilangan imunitas terhadap virus.

Perubahan lain yang dapat terjadi pada virus influenza adalah *genetic shift*. perubahan-perubahan kecil pada protein HA dan NA dapat terakumulasi dan menyebabkan perubahan besar pada protein tersebut. Peristiwa ini menyebabkan terbentuknya protein NA dan HA baru yang belum pernah ditemukan sebelumnya dan populasi manusia yang ada tidak mempunyai imunitas terhadap virus baru tersebut. Informasi genetik dari virus influenza tidak hanya disalin namun akan mengalami *reassortment* dan rekombinasi ketika ada beberapa strain baru virus menginfeksi sel pada saat yang bersamaan. Hal inilah yang dapat menyebabkan strain baru virus yang dapat menyebabkan epidemi dan pandemi besar karena populasi yang ada tidak memiliki pertahanan terhadap strain virus yang baru (Emmeluth, 2003).

2.4. Antivirus influenza

Obat yang dirancang untuk melawan virus H5N1 masih sulit untuk diproduksi dan digunakan. Salah satu alasan kesulitan terletak pada sifat infeksi pada virus yang berlangsung cepat. Ketika virus influenza menyerang saluran pernafasan, virus ini dengan cepat menyebabkan gejala penyakit. Segera setelah ada gejala dan tanda dari infeksi penyakit, sistem imun mulai bekerja menghambat replikasi virus sehingga masih ada celah kesempatan untuk obat antivirus dapat bekerja (Sfakianos, 2009).

2.4.1. Golongan adamantin (amantadin dan rimantadin)

Obat yang pernah digunakan untuk mengatasi virus avian influenza ini adalah amantadin dan rimantadin yang telah digunakan selama beberapa tahun. Dua obat ini mencegah virion untuk memasuki nukleus dari sel inang dan dapat mempengaruhi proses

perakitan virion baru (Sfakianos, 2009). Amantadin dan rimantadin merupakan antivirus yang bekerja melalui penghambatan kanal ion proton M2 dari partikel virus dan menghambat proses *uncoating* dari RNA virus dalam sel inang yang terinfeksi, menyebabkan penghambatan replikasi virus. Amantadin dan rimantadin merupakan antivirus yang hanya digunakan untuk mengatasi infeksi influenza A (Katzung, 2006).

2.4.2. Golongan penghambat neuraminidase

Neuraminidase merupakan salah satu target baru dari obat antivirus yang disebut penghambat neuraminidase. Contoh dari obat penghambat neuraminidase ini adalah zanamivir dan oseltamivir. Zanamivir dan oseltamivir merupakan analog dari asam sialat, mengganggu pelepasan virus dari inang sel yang terinfeksi ke sel inang yang lain, sehingga menghambat penyebaran virus dalam saluran pernafasan. Selain untuk terapi infeksi influenza A, zanamivir dan oseltamivir juga dapat digunakan untuk terapi infeksi virus influenza B (Katzung, 2006).

2.5. Uji aktivitas antivirus influenza

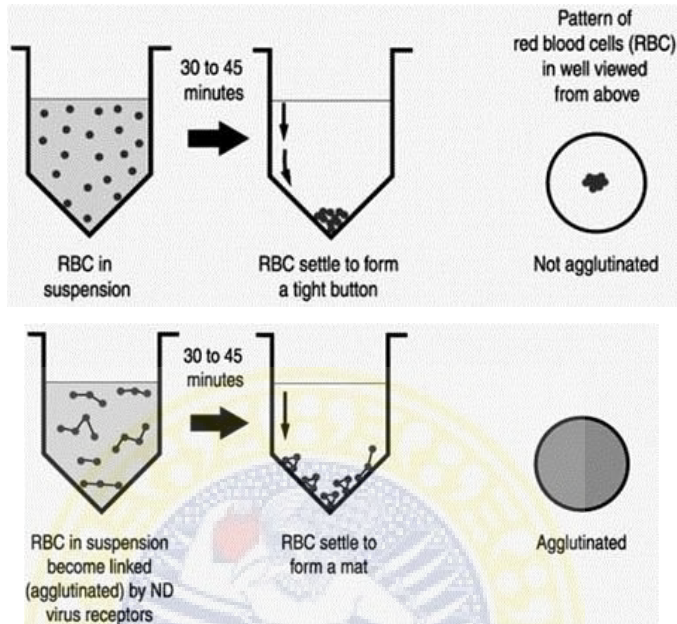
Pengujian aktivitas antivirus dapat dilakukan dengan berbagai macam metode baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

Metode *in vitro* dapat dilakukan dengan menggunakan sel. Sel yang biasa digunakan adalah *Madin Darby canine kidney* (MDCK). Telur ayam berembrio juga sering digunakan dalam pengujian. Evaluasi antivirus dilakukan dengan berbagai pengujian antara lain reduksi *plaque*, uji neuraminidase, uji hameglutinin, uji efek sitopati, uji RT-PCR.

Metode *in vivo* biasanya menggunakan hewan coba seperti ayam, tikus dan musang. Evaluasi antivirus pada metode *in vivo* dilakukan dengan berbagai parameter seperti rata-rata waktu kematian, kematian yang disebabkan pneumonia, berat paru-paru, kejenuhan oksigen pada arteri, pertukaran udara pulmonar, kadar air paru-paru, perubahan berat badan dan pengujian hemagglutinin dan efek sitopati dari sampel organ paru-paru (Sidwell dan Smee, 2000).

Uji hemagglutinasi (HA) merupakan suatu metode yang dapat digunakan untuk menguji aktivitas antivirus. Uji HA bukan merupakan uji identifikasi karena ada beberapa tipe virus seperti *paramyxovirus* dan *adenovirus* dan beberapa bakteri mengandung komponen hemagglutinin. Uji HA tidak selalu menandakan keberadaan virus yang aktif. Uji HA juga dapat mendeteksi komponen virus yang telah terdegradasi dan inaktif serta virus yang tidak lagi infeksius.

Protein hemagglutinin pada permukaan virus influenza dapat berikatan dengan protein yang mengandung asam N-asetilneuraminat pada eritrosit mamalia dan unggas. Ketika dicampur, virus influenza yang ada dalam konsentrasi yang tinggi dapat mengakibatkan terjadinya reaksi agglutinasi dan eritrosit akan bersambungan satu sama lain untuk membentuk suatu difusi jaringan. Apabila virus berada pada jumlah yang cukup banyak, interaksi antara HA dengan eritrosit akan membentuk suatu jaringan yang menyambungkan eritrosit sehingga mencegah eritrosit mengendap menjadi suatu titik endapan pada dasar tabung (Spackman, 2008)



Gambar 2.5. Prinsip hemaglutinasi (Grimes, 2002)

Uji HA dapat digunakan untuk pengujian kuantitatif dengan penghitungan *hemagglutinating unit* (HAU) yang diperkirakan sama dengan 5-6 log dari virus. Pengujian HA ini relatif simpel dan murah untuk dilakukan. Beberapa faktor yang mempengaruhi interpretasi hasil dari uji HA antara lain kualitas eritrosit yang digunakan, temperatur laboratorium, peralatan laboratorium yang digunakan, dan kemampuan dari praktikan. Faktor ini dapat menimbulkan sedikit perbedaan hasil pada uji setiap kali pengujian dilaksanakan.

Well yang menunjukkan hemagglutinasinya menunjukkan positif terdapat adanya virus. *Well* yang terdapat suatu bentukan seperti titik pada bagian dasar berarti tidak mengalami hemagglutinasi atau hemagglutinasi negatif. Ketika adanya bentukan seperti titik pada dasar tetapi tidak begitu jelas hasil ini dianggap hemagglutinasi

sebagian. Untuk membedakan hemaglutinasi negatif dan hemagglutinasinya sebagian dapat dilakukan dengan cara memiringkan *well plate* sekitar 45 derajat selama 20-30 detik. Hemagglutinasi negatif akan membentuk *teardrop* ketika diangkat dan dimiringkan sedangkan pada hasil hemagglutinasi sebagian tidak ada *teardrop* yang terlihat.

