Optimasi Pengaruh Ekstrak Etanol 70 % Bebas dan Tidak Bebas Alkaloid Daun *Justicia gendarussa* Burm. F terhadap Enzim Reverse Transcriptase HIV *in vitro*

Bambang Prayogo¹, Prihartini Widiyanti², Hafrizal Riza³

¹Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga

² Fakultas MIPA, Universitas Airlangga

³ Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura

Abstrak

Latar Belakang : Ekstrak etanol 70% daun *Justicia gendarussa* Burm.f, bebas dan tidak bebas alkaloid dipercaya memiliki aktivitas inhibisi yang kuat terhadap enzim *Reverse Transcriptase* HIV, sebagai upaya menemukan solusi dalam menghadapi prevalensi HIV AIDS yang masih tinggi dengan kendala pengobatan HIV AIDS seperti efek samping dan resistensi. **Metode :** Kedua jenis ekstrak diujikan secara *in vitro* menggunakan teknik Elisa dan dianalisa kandungan kimia yang Gendarusin A yang memiliki efek antiHIV menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi. **Hasil :** Hasil uji Elisa diperoleh persen penghambatan berturut-turut sebesar , 254,2, 254,2, 235,6 dan 279,7 untuk konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm ekstrak bebas alkaloid dan sebesar 169,0, 164,0, 130,5 dan 369,5 untuk konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm ekstrak tidak bebas alkaloid. Hasil kandungan kimia diperoleh Gendarusin A pada ekstrak bebas alkaloid pada waktu retensi 8,402 menit dan ekstrak tidak bebas alkaloid pada waktu retensi 8,381. **Kesimpulan :** *Justicia gendarussa* Burm.f dapat menjadi sumber yang bermanfaat untuk isolasi dan pengembangan inhibitor baru antiHIV.

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

Background : It was believed that 70 % ethanol extract of leaves of *Justicia gendarussa* Burm.f, free and not free alkaloid, has a strong inhibitory activity against HIV reverse transcriptase enzyme, as an effort to find a solution in the face of HIV AIDS prevalence is still high with problem of HIV-AIDS treatment such as side effects and resistances. **Method :** Both types of extracts tested *in vitro* using Elisa technique and analyzed chemical content of Gendarusin A as antiHIV using high performance liquid chromatography. **Result :** Elisa test results obtained percent inhibition, respectively for 254.2 , 254.2 , 235.6 and 279.7 for the concentration of 5 ppm , 10 ppm , 15 ppm and 20 ppm of free – alkaloids extract and 169 , 0 , 164.0 , 130.5 and 369.5 for the concentration of 5 ppm , 10 ppm , 15 ppm and 20 ppm are not free alkaloid extract. The results high performance liquid chromatography obtained Gendarusin A in the free alkaloid - extract at retention time 8.402 minutes and not free alkaloid extract at retention time 8.381. **Conclusion :** *Justicia gendarussa* Burm.f can be a useful source for the isolation and development of new inhibitors antiHIV .

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

PENDAHULUAN

Penyakit HIV-AIDS merupakan masalah global dan penyakit paling mematikan di dunia. Menurut laporan global WHO jumlah kematian akibat AIDS di dunia pada tahun 2009 mencapai 1,8 juta jiwa (WHO, 2009). Sedangkan berdasarkan data dari Kementerian Kesehatan RI, meskipun total kasus HIV dan AIDS secara nasional menurun dari tahun 2011 sebanyak 21.031 dan 4.162 menjadi 9.883 dan 2.224 ditahun 2012 namun angka ini masih tergolong tinggi (Kemenkes RI, 2012). Disisi pengobatan, upaya medik dalam pelayanan pengobatan HIV AIDS masih menghadapi beberapa kendala. Permasalahan seperti penggunaan antiretroviral dimana dosis dan jenis sangat dibatasi efek samping dari obat antiretroviral. Toksisitas dan efek

samping sangat mempengaruhi kepatuhan pasien terhadap antiretroviral. Selain itu penggunaan antiretroviral dewasa ini mengalami resistensi yang menyebabkan kegagalan terapi (Flexner, 2007).

Salah satu strategi penanggulangan HIV dan AIDS dapat dilakukan dengan program penelitian obat tradisional dari bahan alam yang memiliki aktivitas anti HIV AIDS. Penelitian obat tradisional diarahkan untuk mencari bukti ilmiah tentang obat tradisional tersebut (KPA, 2007). Bahan alam masih memegang peranan yang besar sebagai material awal dalam penemuan obat baru (Feher and Schmidt, 2003). Berdasarkan laporan yang dipublikasikan tahun 2007, bahwa terdapat 974 molekul senyawa yang 63% berasal dari alam atau derivat semisintetik yang berasal dari

bahan alam (Newman and Cragg, 2007).

Enzim reverse transcriptase memegang peranan penting pada siklus hidup HIV karena transkripsi balik merupakan tahap awal replikasi virus di dalam sel host. Semua protein dan enzim yang memegang peranan penting pada pembentukan virus baru tidak dibawa oleh virus namun memanfaatkan enzim dan protein dalam sel host (Casiday and Frey, 2001). Sedangkan enzim reverse transcriptase bersama dengan enzim integrase berasal dari virus yang masuk pada sel host pada tahap fusi (Pommier, et al, 2005). Karena itu pengembangan obat yang bekerja pada enzim reverse transcriptase akan langsung menghambat proses siklus berikutnya mulai dari transkripsi balik RNA virus menjadi DNA,

penggabungan DNA virus pada DNA sel host, replikasi inti hingga pembentukan protein virus. Penghambatan pada tahap sesudah transkripsi masih memungkinkan menetapnya infeksi dalam sel host karena DNA virus dapat menetap lama bersama dengan DNA sel host. Karena itu penghambatan pada enzim reverse transcriptase dapat menurunkan infeksi virus HIV (Casiday and Frey, 2001).

Saat ini sedang dikembangkan suatu obat anti HIV yang berasal dari tanaman obat yaitu *Justicia gendarussa* Burm.f. Penelitian yang telah dilakukan di antaranya menguji pengaruh ekstrak heksan, metanol dan etanol tanaman obat *Justicia gendarussa* Burm.f terhadap virus HIV in vitro dan diperoleh ekstrak metanol dan etanol 70% bebas alkaloid memberikan hasil penurunan jumlah

virus (Yuliyangkara, 2010). Bagian herba *Justicia gendarussa* Burm.f menunjukkan aktivitas inhibisi enzim *reverse transcriptase* analog substrat *in vitro* (Woradulayapinij, *et al*, 2005). Senyawa isolat flavonoid apigenin murni menunjukkan penghambatan aktivitas enzim *reverse transcriptase* HIV sebagai analog substrat dan enzim *protease* HIV *in vitro* (Yeon-Ju, *et al*, 2009). Kandungan utama ekstrak etanol 70% *Justicia gendarussa* Burm.f adalah senyawa apigenin. Beberapa kandungan senyawa ini baik komponen utama atau komponen minor dapat memberikan efek sinergis sebagai anti HIV melalui mekanisme yang sama ataupun berbeda (Gilbert and Alves, 2003). Karena itu pada penelitian ini dilakukan uji penghambatan aktivitas enzim *Reverse Transcriptase* HIV menggunakan

ekstrak etanol 70% bebas dan tidak bebas alkaloid.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Daun *Justicia gendarussa* Burm.f diperoleh dari tanaman budidaya di daerah Trawas, Mojokerto, Jawa Timur. Roche RT Activity Kit diperoleh dari PT. Roche, Jerman. Bahan untuk ekstraks, uji alkaloid dan kandungan kimia yaitu etanol 70%, diklorometan, metanol, heksan, aquades, asam sitrat, kertas saring, pereaksi dragendorff, Silika gel GF 254.

Alat

Seperangkat alat ekstraksi seperti maserator, oven memmert, evaporator buchi, ultrasonic Julabo USR 3, *iMark Microplate Absorbance*

Reader, seperangkat alat HPLC : Agilent1100, Kolom *reverse phase* Nova-pak® C18 dengan ukuran 3,9x150 mm.

Tempat pelaksanaan penelitian

Penelitian dilakukan di dua laboratorium yaitu laboratorium Farmakognosi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga dan laboratorium Institut Penyakit Tropis, Universitas Airlangga.

Rancangan Penelitian

Simplisia daun *Justicia gendarussa* Burm.f dibagi menjadi dua kelompok sampel. Kelompok pertama diasamkan untuk membebaskan alkaloid dan kelompok kedua tidak diasamkan. Kemudian kedua kelompok sampel dimaserasi dengan etanol 70% dan kemudian dipekatkan.

Untuk memastikan bebas alkaloid maka kelompok pertama diuji bebas alkaloid menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dengan fase diam Silika Gel GF 254 dan fase gerak diklorometan : metanol, 9 : 1 dengan peraksi semprot Dragendorf. Kedua macam sampel diujikan aktivitasnya dalam inhibisi aktivitas enzim *Reverse Transcriptase* HIV menggunakan Elisa dan ditentukan jenis inhibitornya. Kedua sampel juga dianalisa kandungan kimia untuk mengetahui kadar Gendarusin A yang berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa isolat apigenin memiliki aktivitas inhibisi Reverse Transkriptase HIV. Kondisi yang digunakan dalam HPLC yaitu eluen metanol : air (30 : 70), aliran 1 ml/menit, stop time 25 menit, panjang gelombang 254 nm.

Gambar 1. Struktur gendarusin A

HASIL DAN PEMBAHASAN

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

mampu menurunkan jumlah kultur virus HIV *in vitro*.

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

Gambar 2. Hasil uji bebas alkaloid, A (noda ekstrak bebas alkaloid), B(noda ekstrak tidak bebas alkaloid), C (pembanding *Piper nigrum* L).

Untuk uji inhibisi aktivitas enzim *Reverse Transcriptase* HIV diperoleh dengan menggunakan rumus (1).

$$\% \text{Inhibisi} = \left[\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \times 100\%$$

Keterangan :

A₀= Absorbansi blanko

A₁= Absorbansi sampel

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

<u>Sampel</u>	<u>Konsentrasi</u>	<u>%Inhibisi</u>
A	20 ppm	279,7
	15 ppm	235,6
	10 ppm	254,2
	5 ppm	254,2
B	20 ppm	369,5
	15 ppm	130,5
	10 ppm	164,0
	5 ppm	169,0
K +	100 µg/ml	83
K -	-	-

Keterangan : A : Ekstrak tidak bebas alkaloid

B : Ekstrak bebas alkaloid

K+ : Kontrol positif (Doksorubisin 100 µg/ml)

K- : Kontrol negatif (larutan uji tanpa enzim dan sampel)

Tabel 1 menunjukkan kedua ekstrak memiliki aktivitas penghambatan enzim *Reverse Transcriptase* HIV

yang ditunjukkan dengan persen penghambatan.

Untuk analisa kandungan kimia Gendarusin A diperoleh pada waktu retensi 8,402 menit untuk ekstrak bebas alkaloid dan waktu retensi 8,381 menit dibandingkan dengan standar Gendarusin A 9,6 ppm dengan waktu retensi 8,590 menit.

KESIMPULAN

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

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization, *Global Summary of The HIV AIDS Epidemic, on December 2009*, (online), (http://www.who.int/hiv/data/2009_global_summary.png), diakses 10 November 2011), 2009.
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, *Laporan Situasi Perkembangan HIV&AIDS di Indonesia sampai dengan Juni 2011*, (online), (<http://www.aidsindonesia.or.id/download/LT2Menkes2011.pdf>), diakses 13 November 2011), 2011.
3. Flexner C, HIV Drug Development: The Next 25 Years, *Nature Reviews Drug Discovery*, Vol 6, pp.959-66, 2007.
4. Komisi Penanggulangan AIDS, Strategi Nasional Penanggulangan HIV dan AIDS 2007-2010, (online), (<http://www.undp.or.id/programme/pro-poor/The%20National%20HIV%20&%20AIDS%20Strategy%2020072010%20%28Indonesia%29.pdf>), diakses 3 November 2011), 2007.
5. Feher M, and Schmidt J.M, Property Distributions: Differences Between Drugs, Natural Products, And Molecules From Combinatorial Chemistry, *Journal of Chemical Information and Computer Science*, Vol 43, pp.218-27, 2003.
6. Newman D.J, and Cragg G.M, Natural Products As Sources Of New Drugs Over The Last 25 Years, *Journal of Natural Product*, Vol 70, pp.461-77, 2007.
7. Casiday, R., and Frey, R., *Drug Strategies to Target HIV: Enzyme Kinetics and Enzyme Inhibitors*, Department of Chemistry, Washington University, 2001.
8. Pommier Y, Johnson A.A, and Marchand C, Integrase Inhibitors to Treat HIV/AIDS, *Nature Review: Drug Discovery*, Vol 4, pp.236-48, 2005.
9. Yuliangkara B, Prajogo B.EW, dan Widiyanti P, Pengaruh Ekstrak Heksan, Metanol, dan Etanol Tanaman Obat *Justicia gendarussa* Burm.f terhadap Virus HIV In Vitro, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya, 2010.
10. Woradulayapinij W, Soonthornchareonnon N, and Wiwat C, In vitro HIV Type 1 Reverse transcriptase Inhibitory Activity of Thai Medicinal Plants and *Canna indica* L. rhizomes, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol 101, pp.84-9, 2005.
11. Yeon-Ju K, Hyun-Jeong O, Hyo-Min A, Ho-Jung Kang, Jung-Hyun K, and Young-Hwan K, Flavonoids as Potential Inhibitors of Retroviral Enzymes, *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, Vol 52, pp.321-6, 2009.
12. Gilbert B, and Alves L.F, Synergy in Plant Medicine, *Current Medical Chemistry*, Vol 10, pp.13-20, 2003.