

EFEKTIVITAS LIMA JENIS TANAMAN OBAT SEBAGAI ANTIVIRUS INFLUENZA A (H1N1) SECARA IN VIVO DAN IN VITRO: ARTIKEL REVIEW

Amelia Suci Prafitriyani, Anas Subarnas
Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran,
Jalan Raya Bandung-Sumedang Km. 21 Jatinangor, Sumedang 45363, Indonesia
Email: ameliasucip@gmail.com

ABSTRAK

Artikel ini mengulas berbagai jenis tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antivirus terhadap Influenza A (H1N1). Virus Influenza A (H1N1) merupakan penyakit influenza yang sangat parah jika dibandingkan dengan Influenza B dan C. Dalam pencegahan dan pengobatannya dilakukan dengan pemberian vaksinasi dan antivirus. Tetapi dalam penerapannya hal itu dibatasi, karena dapat terjadi mutasi virus sehingga timbul strain virus baru yang resisten dan tidak dapat dihindari. Oleh karena itu, penggunaan antivirus herbal dari suatu ekstrak tanaman dijadikan sebagai solusi. Keunggulan antivirus herbal yaitu dapat menghambat replikasi virus, inaktivasi virus secara langsung, mengurangi resiko resistensi, dapat digunakan dengan dosis relatif rendah, memiliki efek sinergis, serta memiliki efek samping kecil sehingga relatif aman digunakan. Dalam artikel ini, telah diulas dalam bentuk tabel data mengenai lima jenis ekstrak tanaman yang mempunyai aktivitas sebagai antivirus herbal terhadap Influenza A (H1N1) yang telah diidentifikasi secara in vitro dan in vivo dalam pengujian biologis yang berbeda.

Kata Kunci : Antivirus herbal, Influenza A (H1N1), Uji In vivo dan In vitro

ABSTRACT

This following article reviews goal is to identify different types of plants that have antiviral activity against Influenza A (H1N1). Virus Influenza A (H1N1) is a very severe influenza disease when compared with the Influenza B and C. In the prevention and treatment carried out by vaccination and antiviral. But it is limited in its application, because the viral mutations can occur so that the resulting new virus strain that is resistant and can not be avoided. Therefore, the use of antiviral herbal extract of a plant used as a solution. Advantages of antiviral herbs that can inhibit the replication of the virus, inactivated virus directly, reducing the risk of resistance, can be used with relatively low doses, has a synergistic effect, and has little side effects so relatively safe to use. In this article, reference was made in the form of data tables about five types of plant extracts that have activity as an antiviral herb against Influenza A (H1N1) has been identified in vitro and in vivo in different biological testing.

Keywords: Antivirus herbs, Influenza A (H1N1), In vivo test and in vitro test

Pendahuluan

Influenza A termasuk dalam keluarga Orthomyxoviridae, merupakan virus RNA yang mengandung 8 rantai RNA negatif dengan genom RNA bersegmen yang dapat mengkode

sedikitnya 12 protein, termasuk RNA-dependent RNA polimetase complex (RdRp) : PA, PB1, PB2 dan NP, di membran luar protein : M2, HA, dan NA.¹ HA dan NA merupakan protein terbanyak

yang berada di permukaan virus. Serotipe virus influenza A ditentukan oleh HA dan NA.² Virus Influenza A ditandai dengan mutasi genetik *antigenic drift* dan *antigenic shift* yang sering terjadi dan penyerangannya tidak terduga. Dimana mutasi tersebut menyebabkan munculnya *strain* virus baru, setiap *strain* memiliki konfigurasi yang berbeda-beda pada permukaannya yang memungkinkan untuk menembus ke dalam sel inang dengan mudah.^{2,3} Virus Influenza A memiliki target utama terhadap manusia dan ternak, khususnya unggas dan babi. Virus ini masih menjadi masalah kesehatan yang masih belum dapat diberantas, hal ini disebabkan karena besarnya reservoir alami dari virus tersebut.⁴

Dalam upaya pencegahan dan pengobatan terhadap Influenza A dilakukan pemberian obat antivirus dan vaksinasi. Terdapat dua golongan agen antivirus Influenza yaitu golongan saluran ion M2 *blockers* atau adamantane (amantadine dan rimantadine) dan inhibitor neuraminidase (oseltamivir, zanamivir, dan peramivir).⁵ Golongan adamantane bekerja

dengan cara menghambat saluran ion M2 sehingga proses replikasi virus terhambat, dan golongan ini bekerja spesifik terhadap influenza A yang hanya memiliki saluran ion M2. Sedangkan, golongan inhibitor neuraminidase bekerja dengan menghambat enzim neuraminidase sehingga pelepasan virus terhambat.^{5,6} Selain itu pemberian vaksinasi terhadap orang yang beresiko terkena virus Influenza dan tidak memiliki alergi terhadap kandungan vaksin yang diberikan. WHO merekomendasikan bahwa pemberian vaksin hanya diberikan kepada orang yang memiliki resiko tinggi kontak dengan unggas atau pasien tersebut telah terinfeksi yaitu dengan pemberian terapi profilaksis oseltamivir sebesar 75 mg sekali sehari selama 7-10 hari.⁷

Diantara keduanya, vaksinasi merupakan perlindungan terbaik untuk melawan influenza, namun vaksin yang tepat tidak dapat dikembangkan sebelum munculnya *strain* virus baru. Terdapat beberapa kekurangan vaksinasi dan terapi antivirus dalam menangani Influenza A diantaranya virus influenza cepat

mengalami resistensi terhadap antiviral jika digunakan secara ekstensif, efektivitas obat dan vaksin mulai terbatas penggunaannya.⁸

Selain itu, dalam penggunaannya telah banyak dilaporkan kasus resistensi yang terjadi karena penggunaan obat-obat antivirus tersebut. Munculnya masalah resistensi tersebut merupakan masalah yang serius. Diantaranya potensi penggunaan obat golongan adamantane terbatas karena kurangnya aktivitas terhadap virus influenza B, dan dalam distribusinya amantadine resisten terhadap Influenza A dan menimbulkan efek samping neurologis.⁹ Sedangkan untuk Golongan inhibitor neuraminidase resistensi akan terjadi jika penggunaan obat tersebut terus digunakan. Kasus yang dilaporkan diantaranya adalah 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. Sedangkan resistensi pada golongan inhibitor

neuraminidase terjadi karena substitusi satu asam amino pada neuraminidase (NA), yaitu mutasi H274T. Selain itu Resistensi Oseltamivir terhadap mutasi A/H3N2, A/H1N1 dan A/H5N1.^{8,9}

Oleh karena itu, penggunaan antivirus herbal dari suatu ekstrak tanaman dijadikan sebagai solusi. Hal ini mulai banyak dilakukan, terbukti dari beberapa laporan yang menggambarkan aktivitas antivirus yang kuat dari tanaman obat tradisional, ditunjukkan dengan sumber yang kaya akan molekul baru terhadap *strain* virus influenza. Beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak polifenol yang kaya tanaman, CYSTUS052 menunjukkan antiviral terhadap influenza A dalam kultur sel dan pada tikus. Selain itu, aktivitas antivirus dari CYSTUS052 terhadap virus influenza musiman dan flu biasa juga ditunjukkan pada manusia.¹⁰

Penggunaan antivirus herbal diambil dari ekstrak suatu tanaman yang memiliki aktivitas spektrum yang luas. Keunggulan antivirus herbal yaitu dapat menghambat replikasi virus, inaktivasi virus secara langsung, mengurangi resiko

resistensi, dapat digunakan dengan dosis relatif rendah, memiliki efek sinergis, serta memiliki efek samping kecil sehingga relatif aman digunakan.^{8,9,10} Dalam artikel ini, akan diulas dalam bentuk tabel data mengenai berbagai jenis ekstrak tanaman yang mempunyai aktivitas sebagai antivirus herbal terhadap Influenza A yang telah diidentifikasi secara *in vitro* dan *in vivo* dalam pengujian biologis yang berbeda.

Metode

Data yang disajikan dalam artikel ini, diperoleh berdasarkan metode pengumpulan data primer. Data primer yang penulis gunakan diambil dari jurnal dan artikel ilmiah yang diperoleh melalui hasil pencarian langsung secara online dengan menggunakan mesin pencari *online* yaitu Google dan Google Scholar. Pencarian data dilakukan dengan menggunakan kata kunci “Influenza A”, “extract antiviral Influenza A”, “Herbal extract Influenza A” dan “extract antiviral Influenza A *in vivo* and *in vitro*”. Kemudian pencarian lebih lanjut dilakukan

secara manual dengan menskrining data primer yang sesuai sehingga dapat digunakan sebagai pustaka dalam artikel. Pustaka artikel yang diinklusi adalah artikel ilmiah yang berkaitan dengan efektivitas tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antivirus terhadap Influenza A yang pengujiannya dilakukan berbeda yaitu secara *in vivo* dan *in vitro*. Pencarian data primer menghasilkan 15 jurnal dan kemudian dilakukan tahap *skinning* jurnal yang digunakan sebanyak 10 jurnal.

Hasil

Data yang disajikan diperoleh berdasarkan penelusuran pustaka jurnal dan artikel ilmiah melalui hasil pencarian secara *online*, kemudian dilakukan pencarian secara manual dengan menskrining data yang berkaitan dengan efektivitas tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antivirus terhadap Influenza A yang pengujiannya dilakukan berbeda yaitu secara *in vivo* dan *in vitro*. Dari hasil *skinning* tersebut didapatkan lima jenis herbal antiviral yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Lima Jenis Tanaman berdasarkan Efektivitasnya melalui pengujian in vivo dan in vitro

Jenis Tanaman	Bagian Tanaman	Senyawa Aktif	Aktivitas In Vivo	Aktivitas In Vitro	Referensi
<i>Glycine max L.</i>	Biji	Aglikon	Ekstrak dapat menurunkan replikasi virus influenza dalam tubuh mencit dan tidak menimbulkan toksisitas.	Ekstrak menghambat aktivitas enzim Neuraminidase (NA) dengan nilai IC ₅₀ tinggi pada <i>Fluorescence - based neuraminidase (NA) inhibition assay</i> ,	11
<i>Momordica charantia L.</i>	Biji dan Buah	Flavonoid, polifenol dan alkaloid.	-	Ekstrak metanol <i>Momordica charantia</i> dapat menghambat HA (Hemagglutinin) dalam sel darah merah pada Telur Ayam Berembrio (TAB), berpotensi sebagai Antiviral influenza A.	12
<i>Ribes nigrum L.</i>	Daun	Ladania067.	Ekstrak Ladania067 dari <i>Ribes nigrum</i> , dapat menghambat replikasi virus dalam tubuh mencit dan memiliki toksisitas rendah.	Ekstrak Ladania067 memiliki sifat virucidal kuat dengan menghambat replikasi virus. Didapat indeks selektif (SI = CC ₅₀ / EC ₅₀) dengan terapi luas artinya fungsi profilaksis tanaman ini tidak beracun dalam kultur sel.	13
<i>Cryptoporus volvatus</i>	Buah	Ekstrak air, perlu penelitian	Ekstrak dapat menghambat replikasi virus di	Ekstrak dapat menghambat replikasi virus didapat nilai	14

		lebih lanjut mengenai senyawa aktif tersebut.	paru-paru tikus.	EC ₅₀ dalam <i>Madin-Daby canine kidney</i> (MDCK) <i>cells</i> dilanjutkan uji viabilitas sel dengan MTT Assay diperoleh nilai 50% <i>cytotoxic concentration</i> (CC ₅₀),	
<i>Jatropha curcas</i> L.	Daun	Saponin, Tanin, dan Flavonoid.	-	Ekstrak metanol dan air dari <i>Jatropha curcas</i> dapat menghambat replikasi virus influenza A saat proses adsorpsi dan penetrasi virus dalam sel MDCK dan sel darah merah dan menghambat HA (Hemagglutinin) virus dalam <i>Hemagglutinin Assay</i> .	15

Pembahasan

1. *Glycine max* L.

Ekstrak *Glycine max* L difermentasi dengan menggunakan *Bacillus subtilis* yang kemudian dinamakan Cheonggukjang sebagai ekstrak makanan tradisional yang dikembangkan oleh Korea. Kandungan senyawa kimia yang berpotensi sebagai antivirus influenza A tersebut adalah flavonoid glikosida yang mengalami tahap hidrolisis menjadi Aglycone ketika proses

fermentasi. Penelitian dilakukan secara *In Vivo* dengan menggunakan tikus yg diinokulasi 10^{7.0}EID₅₀/0.1mL A/NWS/33(H1N1), kemudian diberi perlakuan pemberian ekstrak Cheonggukjang (0,2g/Kg) menyebabkan menurunnya replikasi virus pada tikus tanpa adanya toksisitas. Kemudian, secara *In Vitro* dengan *Fluorescence-based neuraminidase (NA) inhibition assay* dengan menggunakan fraksi etil asetat, butanol, dan air. Namun hasil terbaik

ditunjukkan oleh fraksi etil asetat dimana nilai IC_{50} tinggi (konsentrasi obat yang dibutuhkan untuk menghambat waktu paruh neuraminidase).¹¹

2. *Momordica charantia* L.

Pengujian aktivitas antivirus *Momordica charantia* L menggunakan metode TAB (Telur Ayam Berembrio). Metode TAB termasuk uji secara in ovo, yang berada di antara in vivo dan in vitro. Metode ini digunakan untuk melihat toksisitas dari ekstrak *Momordica charantia* L dihasilkan konsentrasi tertinggi yaitu 1000 ppm ekstrak tidak menimbulkan kematian pada embriyo ayam. Kemudian dilanjutkan Uji HA (Hemaglutinasi) yang ditandai dengan penurunan nilai titer HA artinya senyawa tersebut dapat menghambat proses replikasi virus dengan nilai penghambatan terbesar dari ekstrak metanol *Momordica charantia* L sebesar 75,5% .¹²

3. *Ribes nigrum* L.

Ribes nigrum L merupakan tanaman herbal yang berasal dari Jerman. Tanaman tersebut berpotensi memiliki aktivitas antivirus karena kandungan senyawa aktifnya yaitu Ladanina067. Ladanina067 memiliki nilai EC_{50} sebesar $49,3 \pm 1.1$ ng/mL dan nilai CC_{50} pada sel A549 memiliki nilai >1 mg/mL. Sehingga diperoleh nilai IT (EC_{50}/CC_{50}) > 20.408 . Besarnya luas

dari nilai IT, artinya Ladanina067 sangat efektif terhadap inhibisi siklus awal proses infeksi virus. Pengujian secara in vivo, dimana ekstrak Ladanina067 sebanyak 500 μ g yang disuntikan secara intranasal terhadap mencit dapat menghambat virus dalam paru-paru mencit hingga 85% penghambatan. Fungsi profilaksis dari ekstrak tanaman ini tidak menimbulkan toksisitas dalam kultur sel, dan Ladanina067 memiliki sifat virucidal yang kuat dengan cara menghambat replikasi virus.¹³

4. *Cryptosporidium parvum*

Penelitian secara in vivo menunjukkan bahwa ekstrak dapat melindungi kematian mencit dari virus Influenza A/H1N1/09 ketika diberikan ekstrak dosis tinggi yaitu 50 mg/gBB. Secara in vitro menggunakan *Madin-Darby canine kidney* (MDCK) cells diperoleh nilai EC_{50} *Cryptosporidium parvum* dari ekstrak sebesar 0,45mg/mL yang selanjutnya dilanjutkan uji viabilitas dengan MTT Assay diperoleh nilai CC_{50} sebesar 148 mg/mL. Sehingga didapatkan Indeks Terapi tertinggi (CC_{50}/EC_{50}) dalam sel MDCK sebesar 328 sehingga ekstrak dapat menghambat replikasi virus Influenza A. Hal tersebut juga didukung oleh senyawa kimia *Cryptosporidium parvum* mengandung banyak aktivator fisiologi seperti polisakarosa, asam amino,

minyak atsiri, dan asam kriptoporik. Penelitian yang sebelumnya dilakukan menemukan bahwa *aqueous extract* dari *Cryptoporus volvatus* yang berpotensi sebagai antiviral Influenza.¹⁴

5. *Jatropha curcas* L.

Jatropha curcas L merupakan tanaman herbal yang berasal dari India. Penelitian menggunakan ekstrak air dan metanol dari *Jatropha curcas* L untuk melihat sitotoksitasnya dengan menggunakan *Madin-Daby canine kidney* (MDCK) *cells* kemudian dilanjutkan uji secara in vitro dengan uji HA (Hemaglutinin). Penghambatan protein HA virus menggunakan konsentrasi minimal ekstrak $10^{2.5}$ TCID₅₀ (titer HA sebanyak 64) terhadap Influenza A (H1N1), artinya tidak menimbulkan toksik dengan konsentrasi ekstrak air *Jatropha curcas* L senilai 15.57 mg/mL dan ekstrak metanol *Jatropha curcas* L senilai 33.62 mg/mL pada sel MDCK. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak dapat menghambat replikasi virus influenza A saat proses adsorpsi dan penetrasi virus.¹⁵

Berdasarkan data pengujian lima jenis tanaman yang dilakukan secara in vivo dan in vitro tersebut, ternyata kelima jenis tanaman tersebut memiliki kandungan senyawa aktif yang berbeda namun memiliki potensi yang sama yaitu untuk mereplikasi virus. Penggunaan lima jenis

tanaman sebagai antiviral herbal tersebut dijadikan sebagai solusi yang tepat untuk mengurangi resistensi yang disebabkan oleh obat antivirus yang digunakan akibatnya munculnya *strain* virus baru. Keuntungan penggunaan antiviral herbal tersebut diantaranya dapat menghambat replikasi virus, inaktivasi virus secara langsung, mengurangi resiko resistensi, dapat digunakan dengan dosis relatif rendah, memiliki efek sinergis, serta memiliki efek samping kecil sehingga relatif aman digunakan.¹⁶ Untuk metode yang digunakan ternyata terdapat metode yang lebih efektif jika dibandingkan dengan in vivo dan in vitro. Metode tersebut yaitu in ovo, yang tingkatannya berada di antara in vivo dan in vitro. Pengujian secara in ovo tersebut yaitu melalui media Telur Ayam Berembrio (TAB) atau media sel (MDCK). Media TAB tersebut memiliki syarat yang harus dipenuhi dimana antivirus tidak boleh menyebabkan toksik pada media, dan telur ayam yang dipilih berusia 9-11 hari. Media TAB memiliki keuntungan dapat mengurangi penggunaan media sebagai media percobaan. Karena media TAB ini memerlukan sel darah merah ayam untuk melihat aktivitas antivirus dengan uji penghambatan hemaglutinin (HA), dimana inhibisi replikasi virus ditandai dengan penurunan nilai titer HA. Menurut WHO, virus influenza A bersifat sudah tidak menular jika nilai titer dibawah 2^4 .^{16,17}

Simpulan

Lima jenis Antiviral Herbal yang diulas dalam artikel ini yaitu *Glycine max* L, *Momordica charantia* L, *Ribes nigrum* L, *Cryptoporus volvatus*, dan *Jatropha curcas*. Penggunaan antiviral herbal tersebut dijadikan sebagai suatu solusi untuk mengurangi resistensi dari obat antivirus Influenza A (H1N1). Kelima jenis antiviral tersebut memiliki kandungan senyawa aktif yang berpotensi menghambat proses replikasi virus Influenza A (H1N1) dimana efektivitasnya diketahui melalui pengujian secara In Vivo dan In Vitro.

Ucapan Terimakasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Prof. Dr. Anas Subarnas, M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing atas kritik, saran, dan kesediaannya dalam menelaah artikel ini.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

Daftar Pustaka

1. Ho JY, Chang HW, Lin CG, Liu CJ, Hsieh CF, Horng JT. Characterization of the Anti-Influenza Activity of the Chinese Herbal Plant *Paeonia lactiflora*. *J Viruses*. 2014;6:1861-1875.
2. El Zowalaty ME, Bustin SA, Hussein MI, Ashour HM. Avian influenza: virology, diagnosis and surveillance. *Future Microbiol*. 2013;8:1209-27.
3. De Clercq E. Antiviral agents active against influenza A viruses. *Nat Rev Drug Discov*. 2006;5:1015-1025.
4. Zimmer SM, Burke DS. Historical perspective-emergence of influenza A (H1N1) viruses. *N Engl J Med*. 2009;361:279-285.
5. Wang C, Takeuchi K, Pinto LH, Lamb RA. Ion channel activity of influenza A virus M2 protein: Characterization of the amantadine block. *J Virol*. 1993;67:5585-5594.
6. Matrosovich MN, Matrosovich TY, Gray T, Roberts NA, Klenk HD. Neuraminidase is important for the initiation of influenza virus infection in human airway epithelium. *J Virol*. 2004;78:12665-12667.
7. Radji M. Avian influenza A: patogenesis, pencegahan dan penyebaran pada manusia. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2006;3:55-65.
8. Whitley R.J, Boucher CA, Lina B, Nguyen VT, Osterhaus A, Schutten M, et al. Global Assessment of Resistance to Neuraminidase Inhibitors: 2008-2011. The Influenza Resistance Information Study (IRIS). *Clin Infect Dis*. 2013;56:1197-1205.
9. Nguyen JT, Hoopes JD, Le MH, Smee DF, Patick AK, Faix DJ, et al. Triple combination of amantadine, ribavirin, and oseltamivir is highly active and synergistic against drug resistant influenza virus strains *in vitro*. *PLoS One*. 2010;5:9332.
10. Kitazato K, Wang Y, Nobayashi K. Viral infectious disease and natural products with antiviral activity. *Drug Discov Ther*. 2007;1:14-22.
11. Wei B, Se-Yeoun C, Min K, Young JK, Chang WC, Young KR, et al. Antiviral activity of Chongkukjang extracts against influenza A virus *in vitro* and *in vivo*. *J Ethn Foods*. 2015;2:47-51.
12. Purwitasari N, Herra S, Kadek R. Aktivitas antivirus influenza dari ekstrak metanol buah *Momordica charanti*. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2015;2:2.
13. Haasbach E, Carmen H, Alice H, Alicja S, Ulrich W, Christina E, et al. Antiviral activity of *Ladania067*, an extract from wild black currant leaves

- against influenza A virus in vitro and in vivo. 2014;5:171.
14. Gao L, Sun Y, Si J, Liu J, Sun G, et al. *Cryptosporidium parvum* Extract Inhibits Influenza Virus Replication In Vitro and In Vivo. PLoS ONE. 2014;9:12.
 15. Patil D, Soumen R, Ritwik D, Shreewardhan R, Sweta K, Ranjana D, et al. Evaluation of *Jatropha curcas* Linn. leaf extracts for its cytotoxicity and potential to inhibit hemagglutinin protein of Influenza virus. Indian J Virol. 2013;24(2):220–226.
 16. Wang JX, Zhou JY, Yang QW, Chen Y, Li X, Piao YA, et al. An improved embryonated chicken egg model for the evaluation of antiviral drugs against influenza A virus. Journal of Virological Method. 2008;153:218-222.
 17. Chattopadhyay D, Sarkar MC, Chatterjee T, Dey RS, Bag P, Chakraborti S, et al. Recent advancements for the evaluation of anti-viral activities of natural products. New Biotechnology. 2009;25(5):347-368.