

UJI AKTIVITAS ANTIVIRAL BEBERAPA RIMPANG TUMBUHAN ZINGIBERACEAE

Sri Atun⁽¹⁾, Nurfini Aznam⁽¹⁾, Retno Arianingrum⁽¹⁾, Sri Nurestri⁽²⁾

⁽¹⁾ Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta
Jl. Colombo No. 1 Yogyakarta 55281

⁽²⁾ Institute of Biological Science Faculty of Science University of Malaya
Kualalumpur, Malaysia 50603

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antiviral dari beberapa rimpang tumbuhan Zingiberaceae di Indonesia. Beberapa rimpang tumbuhan yang diteliti antara lain kunci pepet (*Kaemferia rotunda*), temugiring (*Curcuma heyneana* Val), lengkuas (*Alpinia galanga* Sw), dan temuireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb). Uji aktivitas antiviral dilakukan terhadap virus AI H5N1, dengan cara membuat suspensi virus AI H5N1 0,1 mL + 0,5 mL larutan ekstrak 1% di tambah antibiotika penisilin 10.000 IU/mL, streptomycin 10 mg/mL, diinkubasi 37°C selama 30 menit. Suspensi virus tersebut sebanyak 0,1 mL diinokulasikan pada TAB lewat ruang korioalantois. Telur diinkubasi dalam mesin penetas selama 3 hari. Diamati ada tidaknya kematian embrio setiap hari. Telur disimpan dalam almari es selama 24 jam, kemudian cairan alantois dipanen untuk diuji titer hemaglutinasinya (HA). Uji hemaglutinasi dilakukan menurut OIE (2008) dengan modifikasi. Pada prinsipnya cairan alantois 0,05 mL diencerkan seri 2 kali kemudian direaksikan dengan eritrosit ayam 0,5%. HA dikatakan positif apabila terjadi hemaglutinasi. Titer HA adalah kebalikan dari pengenceran tertinggi yang masih menunjukkan reaksi positif. Ekstrak dikatakan mempunyai aktivitas antiviral apabila titer HA berbeda signifikan dengan kontrol atau bahkan titer HA sekitar 2⁰. Sebagai kontrol digunakan embrio telur yang diinokulasi hanya dengan suspensi virus AI H5N1. Uji aktivitas antiviral terhadap virus AI H5N1 dari ekstrak maupun fraksi-fraksi dari umbi tumbuhan kunci pepet (*Kaemferia rotunda*), temugiring (*Curcuma heyneana* Val), lengkuas (*Alpinia galanga* Sw), dan temuireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb), menunjukkan ekstrak metanol dari kunci pepet, temu ireng, dan temu giring menunjukkan aktivitas antiviral rendah, sedangkan fraksi heksan kunci pepet dan fraksi heksan temu ireng menunjukkan aktivitas antiviral yang tinggi.

Kata kunci: obat herbal Nusantara; antiviral; H5N1

Abstracts

The aim of the research is to study some tuber of Zingiberacea against as antiviral in Indonesia. Some tuber plant were studied from "kunci pepet" (*Kaemferia rotunda*), "temugiring" (*Curcuma heyneana* Val), galangal (*Alpinia galanga* Sw), and "temuireng" (*Curcuma aeruginosa* Roxb.). Antiviral activity test was carried out on the AI virus H5N1, by preparing 0.5 mL AI H5N1 virus suspension added by 0.1 mL extract 1%; 10,000 IU / mL antibiotic penicillin; 10 mg / mL streptomycin, then was incubated at 37°C for 30 minutes. 0,1 mL of this suspension was inoculated on the TAB through corioalantois space. Eggs were

incubated in the incubator for 3 days. Embryo mortality was observed every day. Eggs was stored in refrigerator for 24 hours, then was harvested for liquid allantois to test its hemagglutination titer (HA). Hemagglutination test was performed according to OIE (2008) with modifications. 0.05 mL allantois fluid was diluted in 2 times series and then was reacted with 0.5% chicken erythrocytes. HA positive in case of hemagglutination. HA titer is the reciprocal of the highest dilution that still showed a positive reaction. Extract is said to have antiviral activity when the HA titer differs significantly from the control or even a HA titer of approximately 20. As a control embryo was inoculated only with the H5N1 AI virus suspension. The antiviral activity test of extracts and fractions from tubers of kunci pepet (*Kaemferia rotunda*), temugiring (*Curcuma heyneana* Val), galangal (*Alpinia galanga* Sw), and temu ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb) plant against the AI virus H5N1 show that the methanol extract of kunci pepet, temu ireng, and temu giring have a lower activity as antiviral. While the hexane fraction of kunci pepet and temu ireng show that they have a high activity as antiviral.

Keywords: herbal medicine Nusantara archipelago; antiviral; H5N1

PENDAHULUAN

Beberapa penelitian etnomedika yang tercatat dalam dokumen kuno dari beberapa wilayah Indonesia telah diketahui sebanyak 78 spesies tumbuhan yang digunakan oleh 34 etnis untuk mengobati penyakit malaria, 30 etnis memanfaatkan 133 spesies tumbuhan untuk mengobati penyakit demam, 30 etnis memanfaatkan 110 spesies tumbuhan untuk mengobati gangguan pencernaan, dan 27 etnis memanfaatkan 98 spesies tumbuhan untuk mengobati penyakit kulit. Namun demikian, agar tumbuhan tersebut dapat dikembangkan sebagai obat modern dan dilestarikan perlu dilakukan penelitian yang berkelanjutan, sehingga dapat diketahui jenis senyawa bioaktifnya dan khasiatnya untuk mengobati penyakit-penyakit tersebut (Dina N., 2004).

Penyakit yang disebabkan infeksi maupun virus masih menjadi perhatian dan prioritas baik di Negara Indonesia maupun di dunia pada umumnya, oleh karena adanya kecenderungan resistensi dan kekebalan bakteri maupun virus terhadap penggunaan obat yang terus menerus (Anonim, 2001). Dengan demikian penemuan senyawa bioaktif baru yang dapat digunakan sebagai *lead compound* dari tumbuhan obat herbal Nusantara sangat menarik untuk dilakukan.

Beberapa tumbuhan yang telah digunakan sebagai obat campak, influenza, maupun herpes antara lain mengkudu (*Morinda citrifolia* Lin), cangkkring (*Erythrina fusca* Lour), brotowali (*Tinospora crispa* Miers), temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb), kunyit (*Curcuma domestica* Val), kunci pepet (*Kaemferia rotunda* L), tapak liman

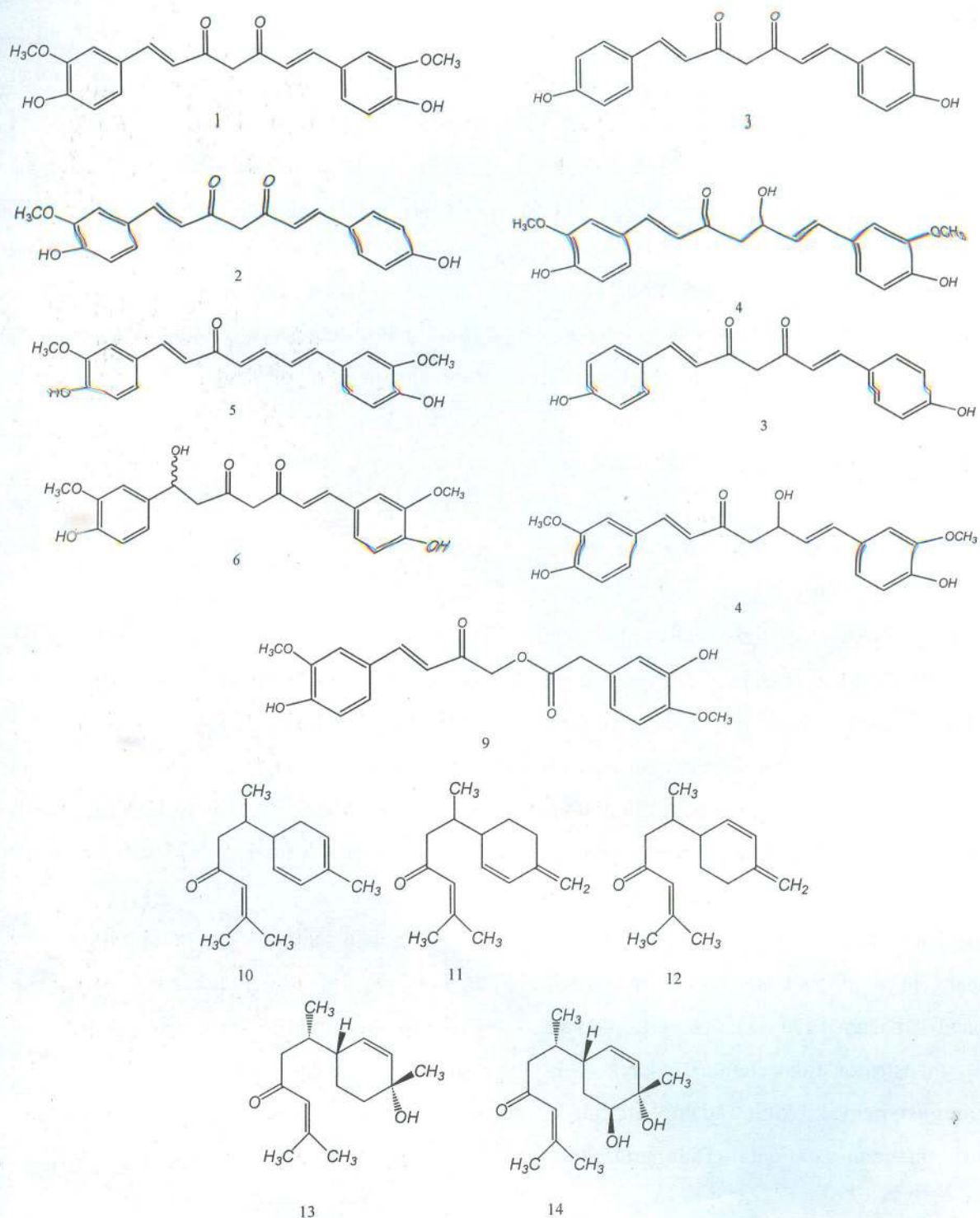
(*Elephantopus scaber* Linn), temugiring (*Curcuma heyneana* Val), lengkuas (*Alpinia galanga* Sw), dan temu ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb) (Sudarman M & Harsono R, 1989). Namun dalam penelitian ini hanya akan dipilih beberapa spesies tumbuhan dari famili Zingiberaceae yang belum diteliti secara tuntas, yaitu kunci pepet, temugiring, lengkuas dan temu ireng. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antiviral terhadap virus AI H5N1 dari ekstrak maupun fraksi-fraksi dari umbi tumbuhan kunci pepet (*Kaemferia rotunda*), temugiring (*Curcuma heyneana* Val), lengkuas (*Alpinia galanga* Sw), dan temu ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb).

Famili tumbuhan Zingiberaceae tersebar di Asia Selatan dan Asia Tenggara, terdiri dari 47 genus dan sekitar 1000 spesies (Cronquist, 1981). Beberapa spesies tumbuhan dari famili ini banyak digunakan dan terdapat dalam semua ramuan obat tradisional, seperti jamu. Tumbuhan ini selain sebagai rempah-rempah juga digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit, seperti demam, diare, menstruasi tidak teratur, tuberkulosis, radang gusi, penyakit kulit, radang hati, tumor, malaria, maupun gatal-gatal (Dalimarta, 2003; Heyne, 1987).

Penelitian kandungan senyawa metabolit sekunder tumbuhan famili

Zingiberaceae yang banyak dilaporkan adalah dari tumbuhan *C. domestica*; *C. longa*; *C. anthorrhiza*; *C. zedoaria*, sedangkan *C. hyenana* (temu giring) dan *C. aeruginosa* (temu ireng) belum diteliti secara tuntas (Syamsul A.A, 2007). Dari beberapa tumbuhan *Curcuma* tersebut dilaporkan beberapa spesies yang telah diteliti mengandung senyawa fenol turunan diarilheptanoid dan kurkuminoid dan senyawa seskuiterpen. Gambar 1 menampilkan beberapa senyawa kurkuminoid yang telah ditemukan pada *C. domestica* dan *C. longa* antara lain kurkumin (1), demetoksikurkumin (2), bis(4-hidroksisinamoil)-metan (3), dihidrokurkumin (4), 1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,4,6-heptatrien-3-on (5), 1-hidroksi-1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-6-hepten-3,5-dion (6), 1,7-bis(4-hidroksi-fenil)-1-hepten,3,5-dion (7), 1,7-bis(4-hidroksifenil)-1,4,6-heptatrien-3-on (8), dan calebin A (9) (Park, 2002).

Selain senyawa kurkuminoid, dari *C. domestica* juga ditemukan senyawa seskuiterpen keton jenis bisabolen, seperti α -tumeron (10), β -tumeron (11), kurlon (12), 4-hidroksibisabola-2,10-dien-4-on (13), dan bisakuron (14) (Matsuo, 2002).



Gambar 1. Beberapa Senyawa yang telah ditentukan pada famili Zingiberaceae

Beberapa penelitian terhadap efek farmakologi senyawa kurkuminoid yang telah ditemukan dari tumbuhan famili Zingiberaceae memperlihatkan aktivitas antioksidan, anti-inflamasi, antikarsinogen, dan antifungal (Ozaki, 1990; Masuda, 1992; Claeson, 1996). Kandungan kimia minyak atsiri tumbuhan ini memperlihatkan sifat-sifat sebagai penolak serangga, antijamur, dan antibakteri (Hwang, 2000; Shim, 2001). Kandungan senyawa metabolit sekunder dari temu giring (*Curcuma hyenana*) dan temu ireng (*C. aeruginosa*) sampai saat ini belum dilaporkan secara tuntas, namun demikian biasanya senyawa dari spesies tumbuhan dalam satu famili memiliki kemiripan satu dengan yang lainnya.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, yaitu untuk mengetahui aktivitas antiviral terhadap virus AI H5N1 ekstrak dan beberapa fraksi dari rimpang tumbuhan kunci pepet (*Kaemferia rotunda*), temugiring (*Curcuma heyneana* Val), lengkuas (*Alpinia galanga* Sw), dan temuireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb).

Subyek dan Obyek Penelitian

Subyek penelitian ini rimpang tumbuhan kunci pepet (*Kaemferia rotunda*),

temugiring (*Curcuma heyneana* Val), lengkuas (*Alpinia galanga* Sw), dan temuireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb). Objek penelitian ini adalah aktivitas antiviral terhadap virus AI H5N1.

Alat dan bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Alat

- evaporator Buchi Rotavapor R-114
- kromatografi cair vakum (kcv) untuk fraksinasi dilakukan dengan silika gel Merck 60 GF₂₅₄,
- kromatografi gravitasi (kkg) dilakukan dengan silika gel 60 (35–70 mesh)
- kromatografi kolom tekan (kkt) menggunakan silika gel 60 (230–400 mesh), dan sepadex LH-20
- kromatografi sentrifugal sistem radial (kromatotron) dilakukan dengan silika gel Merck PF₂₅₄ (0,5; 1; dan 2 mm),
- analisis kromatografi lapis tipis (klt) menggunakan plat Si-gel Merck 60 F₂₅₄ 0,25 mm.
- Lampu UV pada λ 256 dan 366 nm
- Spektrofotometer IR
- Spektrofotometer UV-VIS
- Spektrofotometer NMR (600 MHz)
- Spektrofotometer FAB MS
- Korioalantois

- Mesin penetas
- Fresher

Bahan:

- Pelarut yang digunakan untuk isolasi dan pemurnian senyawa oligoresveratrol antara lain metanol, aseton, *n*-heksan, etil asetat, metilen klorida, kloroform dengan kualitas teknis dan p.a.
- Sampel umbi tumbuhan kunci pepet (*Kaemferia rotunda*), temugiring (*Curcuma heyneana* Val), lengkuas (*Alpinia galanga* Sw), dan temuireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb).
- pereaksi penampak noda pada analisis kromatografi lapis tipis digunakan larutan 2% serum sulfat (CeSO_4) dalam asam sulfat.
- pereaksi geser untuk analisis spektrofotometer UV digunakan larutan natrium hidroksida (NaOH) 2 %.
- Virus AI H5N1
- Embrio telur SPF (*Spesiphyc pathogen free*), yang telah ditetaskan dengan mesin penetas 9 -11 hari
- Antibiotika pinicillin, streptomisin

Prosedur Kerja

Prosedur kerja yang akan dilakukan mengikuti meliputi antara lain:

1. Pembuatan ekstrak sampel tumbuhan

Jaringan tumbuhan yang biasa digunakan untuk pengobatan seperti rimpang tumbuhan kunci pepet (*Kaemferia rotunda*), temugiring (*Curcuma heyneana* Val), lengkuas (*Alpinia galanga* Sw), dan temuireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb), dari masing-masing jenis sampel dikumpulkan, dicuci bersih, dikeringkan, dan dibuat serbuk. Selanjutnya dilakukan maserasi dari masing-masing jaringan maupun sampel tumbuhan dengan pelarut metanol selama 24 jam dan diulangi sebanyak 2 kali. Filtrat yang diperoleh dari masing-masing sampel tumbuhan selanjutnya dipekatkan menggunakan evaporator vakum sampai 1/3 bagian. Ekstrak pekat dari masing-masing tumbuhan selanjutnya di partisi berturut-turut menggunakan pelarut *n*-heksan, kloroform, dan etil asetat.

2. Uji toksisitas

Semua bahan uji dibuat konsentrasi 0,01%; 0,1%, dan 1% kemudian diinokulasikan ke dalam telur ayam berembrio umur 10 hari. Telur diinkubasi dalam mesin penetas selama 24 jam, kemudian diamati apakah embrio tetap hidup atau mati. Evaluasi uji toksisitas: bahan dikatakan toksik apabila menyebabkan kematian embrio dalam waktu 24 jam. Bahan aman dipakai apabila tidak

menyebabkan kematian embrio dalam waktu 24 jam inkubasi.

3. Uji aktivitas antiviral

Virus AI H5N1 0,1 mL + 0,5 mL larutan ekstrak 1% di tambah antibiotika penisilin 10.000 IU/mL, streptomycin 10 mg/mL, diinkubasi 37°C selama 30 menit. Suspensi virus tersebut sebanyak 0,1 mL diinokulasikan pada TAB lewat ruang korioalantois. Telur diinkubasi dalam mesin penetas selama 3 hari. Diamati ada tidaknya kematian embrio setiap hari. Telur disimpan dalam almari es selama 24 jam, kemudian cairan alantois dipanen untuk diuji titer hemaglutinasinya (HA). Uji hemaglutinasi dilakukan menurut OIE (2008) dengan modifikasi. Pada prinsipnya cairan alantois 0,05 mL diencerkan seri 2 kali kemudian direaksikan dengan eritrosit ayam 0,5%. HA dikatakan positif apabila terjadi hemaglutinasi. Titer HA adalah kebalikan dari pengenceran tertinggi yang masih menunjukkan reaksi positif. Ekstrak dikatakan mempunyai aktivitas antiviral apabila titer HA berbeda signifikan dengan kontrol atau bahkan titer HA sekitar 2⁰. Sebagai kontrol digunakan telur yang diinokulasi dengan suspensi virus AI H5N1 tanpa ekstrak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Ekstraksi dan fraksinasi sampel tumbuhan

Bahan tumbuhan yang berupa serbuk kering umbi kunci pepet, temu giring, temu ireng, temu lawak dan laos, masing-masing sebanyak 3 Kg, dimasukkan ke dalam jerigen plastik ukuran 20 L, dan ditambahkan pelarut metanol sebanyak 10 L, selanjutnya direndam selama 24 jam. Ekstrak dari masing-masing sampel selanjutnya disaring dan dikumpulkan filtratnya. Residu selanjutnya di maserasi kembali menggunakan metanol, dan diulang seperti prosedur sebelumnya. Filtrat yang diperoleh dari masing-masing sampel tumbuhan selanjutnya dipekatkan menggunakan evaporator vakum sampai 1/3 bagian. Ekstrak pekat dari masing-masing tumbuhan selanjutnya di partisi berturut-turut menggunakan pelarut n-heksan, kloroform, dan etil asetat. Ekstrak hasil partisi selanjutnya dipekatkan dengan evaporator vakum, sehingga diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstraksi dan partisi dari masing-masing rimpang tumbuhan di sajikan dalam Tabel 1.

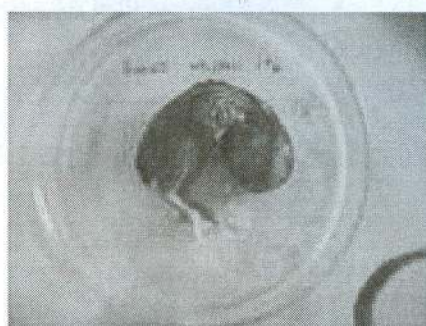
Tabel 1. Hasil ekstraksi dan partisi dari sampel umbi kunci pepet, temu giring, temu ireng, temu lawak, dan laos

No	Sampel tumbuhan (berat Kg)	Berat ekstraks			
		Metanol	n-heksan	Berat Fraksi (gr)	
				Kloroform	Etil asetat
1	Kunci pepet (3 kg)	230	43,2	135,8	31,9
2	Temu ireng (3 kg)	430	120	85	-
3	Temu lawak (3 kg)	260	35	70	77,4
4	Temu giring (3 kg)	150	45	35	86
5	Laos (3 kg)	567	48,8	157,6	127,3

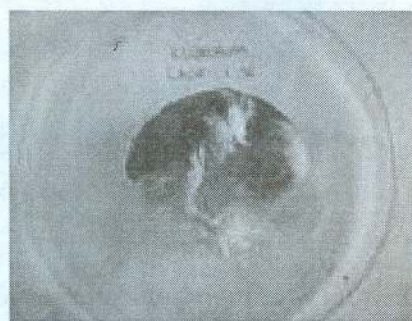
2. Uji toksisitas

Uji toksisitas dan uji aktivitas antiviral dilakukan di laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan UGM, Yogyakarta. Uji toksisitas perlu dilakukan terhadap ekstrak untuk mengetahui sifat ketoksikan bahan terhadap embrio telur ayam. Sebanyak 0,1 mL ekstrak dalam pelarut yang sesuai konsentrasi 1%; 0,1%; dan 0,01% diinokulasikan ke telur ayam berembrio umur 10 hari. Telur diinkubasi dalam mesin penetas selama 24 jam. Embrio ayam selanjutnya dikeluarkan

dan diamati ada tidaknya kelainan akibat bahan uji, beberapa di antaranya dapat ditunjukkan pada Gambar 1. Hasil uji toksisitas dari masing-masing ekstrak disajikan dalam Tabel 2. Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa semua bahan uji tidak bersifat toksis, hal ini ditunjukkan karena semua embrio ayam masih hidup dan tidak terjadi kelainan atau kerusakan organ embrio tersebut, sehingga uji aktivitas antiviral selanjutnya dapat dilakukan pada konsentrasi larutan ekstrak sampai 1%



a



b

Gambar 1. Embrio ayam setelah diinokulasikan dengan ekstrak temu ireng 1% (a) dan laos 1% (b) pada uji toksisitas

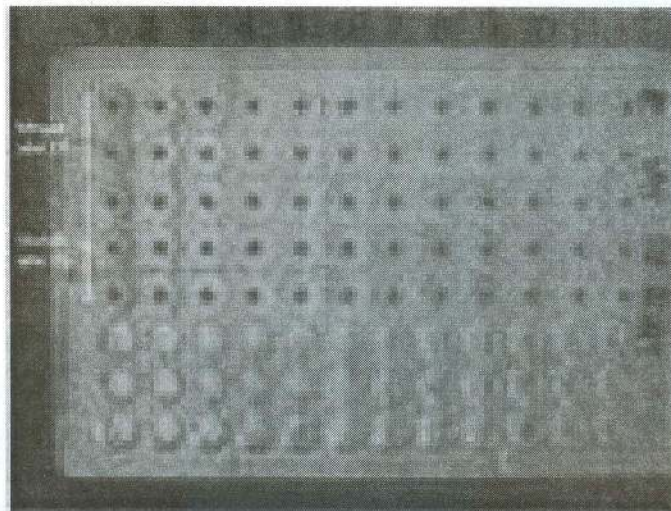
Tabel 2. Hasil uji toksisitas ekstrak

No.	Sampel	Ekstrak/Fraksi	Pengamatan embrio ayam pada konsentrasi		
			0,01%	0,1%	1%
1	Kunci pepet	metanol	+	+	+
		heksan	+	+	+
		kloroform	+	+	+
		Etil asetat	+	+	+
2	Temu ireng	metanol	+	+	+
		heksan	+	+	+
		Etil asetat	+	+	+
3	Temu giring	metanol	+	+	+
		heksan	+	+	+
		kloroform	+	+	+
		Etil asetat	+	+	+
4	Laos	metanol	+	+	+
		kloroform	+	+	+
		Etil asetat	+	+	+
5	Temu lawak	metanol	+	+	+
		kloroform	+	+	+
		Etil asetat	+	+	+

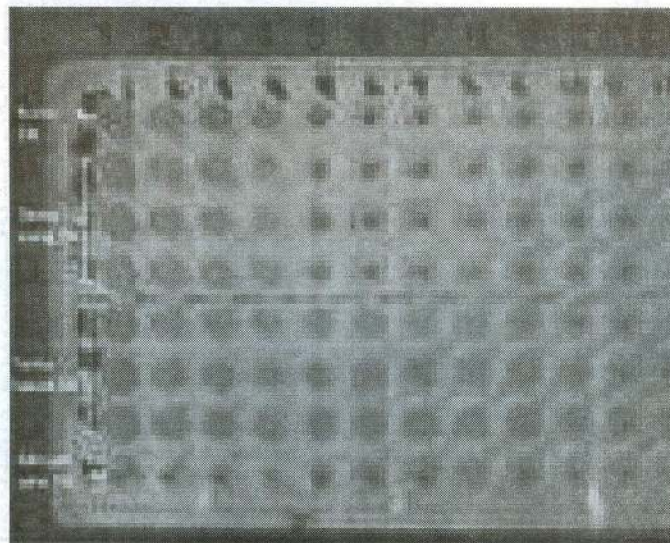
Keterangan: + artinya semua embrio masih hidup

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antiviral

No	Sampel	Ekstrak	Hasil titer HA	Kondisi embrio ayam
1	Kontrol	Virus AI	2 ⁸	mati
2	Kunci pepet	Metanol 1%	2 ⁵	mati
		Heksan 1%	2 ⁰	hidup
3	Temu ireng	Metanol 1%	2 ⁶	mati
		Heksan 1%	2 ⁰	hidup
4	Temu giring	Metanol 1%	2 ⁶	mati
5	laos	Metanol 1%	2 ⁷	mati
6	Temulawak	Metanol 1%	2 ⁹	mati



a. Titer HA 2^0 artinya tidak mengalami hemaglutinasi dari sumuran ke 1 sumur ke 12 kontrol eritrosit ayam yang tidak mengalami hemaglutinasi



b. Titer HA 10^5 artinya mulai mengalami hemaglutinasi pada sumur ke 5 (b)

Gambar 3. (a) Uji aktivitas antiviral yang tidak terjadi hemaglutinasi (aktif) dan (b) yang mengalami hemaglutinasi pada sumur ke 5 (HA = 2^5 (tidak aktif))

3. Uji aktivitas antiviral

Uji aktivitas antiviral dilakukan terhadap virus AI H5N1. Virus AI H5N1 0,1 mL + 0,5 mL larutan ekstrak 1% di tambah antibiotika penisilin 10.000 IU/mL, streptomycin

10 mg/mL, diinkubasi 37°C selama 30 menit. Suspensi virus tersebut sebanyak 0,1 mL diinokulasikan pada TAB lewat ruang korioalantois. Telur diinkubasi dalam mesin penetas selama 3 hari, replikasi dalam setiap penelitian

adalah 5 kali. Diamati ada tidaknya kematian embrio setiap hari. Telur disimpan dalam almari es selama 24 jam, kemudian cairan alantois dipanen untuk diuji titer hemaglutinasinya (HA). HA dikatakan positif apabila terjadi hemaglutinasi. Titer HA adalah kebalikan dari pengenceran tertinggi yang masih menunjukkan reaksi positif. Ekstrak dikatakan mempunyai aktivitas antiviral apabila titer HA berbeda signifikan dengan kontrol atau bahkan titer HA sekitar 2^0 . Sebagai kontrol digunakan cairan alantonis embrio ayam yang diinokulasi dengan hanya dengan suspensi virus (titer HA 2^8). Hasil uji aktivitas antiviral terhadap beberapa ekstrak terdapat dalam Tabel 3, sedangkan gambar beberapa contoh uji aktivitas terdapat pada Gambar 3.

PEMBAHASAN

Virus H5N1 termasuk virus influenza A, yang inangnya adalah burung yang hidup di air (*aquatic bird*). Virus ini akhirnya beradaptasi dengan inang dan tidak menyebabkan penyakit pada inangnya tersebut. Beberapa inang yang permanen dari virus influenza A adalah mamalia, babi, kuda, dan ayam ternak. Dan umumnya virus influenza ini adalah *host specific*, dimana virus yang menginfeksi mamalia hanya menginfeksi

manusia, tidak bisa menginfeksi burung, dan begitu juga sebaliknya.

Virus influenza yang memiliki RNA sebagai genomnya adalah virus yang mudah berubah, bisa berupa antigenic shift, yang diakibatkan adanya akumulasi mutasi pada genomnya, bisa juga berupa antigenic drift, yaitu terjadinya persilangan genom antara virus dengan tipe yang berbeda. Perubahan ini dilakukan virus influenza tidak hanya untuk menghindari sistem imun inangnya, tetapi juga agar bisa menginfeksi beberapa jenis inang yang berbeda. Virus AI H5N1 adalah produk dari antigenic drift, dimana telah terjadi persilangan genom antara virus dari jenis yang menginfeksi burung dengan jenis virus yang menginfeksi manusia.

Dalam penelitian ini telah dilakukan penelitian uji aktivitas antiviral dari ekstrak total (metanol total), dan fraksi-fraksi dari ekstrak rimpang tumbuhan kunci pepet (*Kaemferia rotunda*), temugiring (*Curcuma heyneana* Val), lengkuas (*Alpinia galanga* Sw), dan temuireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb). Uji aktivitas dilakukan di Laboratorium mikrobiologi, Kedokteran UGM, dengan menggunakan virus AI H5N1 terhadap embrio telur ayam. Telur ayam yang digunakan adalah telur SPF (*Spesiphyc phatogenesis free*) dari Indo Farma yang khusus digunakan untuk uji

antivirus dan penggunaan vaksin. Telur ayam selanjutnya ditetaskan menggunakan mesin penetas, dan setelah berumur 9 -11 hari digunakan untuk uji aktivitas.

Sebelum dilakukan uji aktivitas antiviral terlebih dahulu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui sifat ketoksikan bahan uji terhadap embrio ayam atau sebagai kontrol. Apabila embrio ayam tidak mati setelah dimasukkan ekstrak, berarti ekstrak aman untuk digunakan. Dalam penelitian uji ketoksikan digunakan larutan ekstrak dalam metanol 5% pada konsentrasi 0,01; 0,1; dan 1%. Hasil uji ketoksikan menunjukkan bahwa semua ekstrak pada konsentrasi yang digunakan tidak menyebabkan kematian maupun kerusakan embrio ayam. Oleh karena itu untuk uji antiviral selanjutnya digunakan konsentrasi ekstrak 1%.

Uji aktiviral antiviral terhadap virus AI H5N1 digunakan dengan menggunakan telur SPF yang telah mengandung embrio usia 9- 11 hari penetasan. Virus AI H5N1 0,1 mL + 0,5 mL larutan ekstrak 1% di tambah antibiotika penisilin 10.000 IU/mL, streptomycin 10 mg/mL, diinkubasi 37°C selama 30 menit. Suspensi virus tersebut sebanyak 0,1 mL diinokulasikan pada TAB lewat ruang korioalantois bersama-sama dimasukkan juga ekstrak uji. Telur diinkubasi dalam mesin

penetas selama 3 hari, replikasi dalam setiap penelitian adalah 5 kali. Diamati ada tidaknya kematian embrio setiap hari. Setelah 3 hari diambil cairan alantolisnya dan diuji titer hemaglutinasinya (HA). HA dikatakan positif apabila terjadi hemaglutinasi, dengan menggunakan kontrol eritrosit embrio ayam. Virus akan berikatan dengan eritrosit membentuk hemaglutinat, apabila terdapat bahan uji yang aktif, maka bahan uji akan membunuh virus dengan cara masuk ke dalam membran lipid bilayer. Hasil titer HA dari beberapa ekstrak maupun fraksi dikatakan aktif apabila lebih kecil dibandingkan kontrol. Dalam penelitian ini menunjukkan bahwa HA dari ekstrak metanol kunci pepet, ekstrak metanol temu ireng, dan ekstrak metanol temu giring menunjukkan HA yang lebih kecil dari kontrol ($HA = 2^8$) tetapi tidak signifikan, fraksi heksan kunci pepet dan fraksi heksan temu ireng menunjukkan HA yang jauh lebih kecil (2^0), sehingga disimpulkan bahwa kedua fraksi tersebut menunjukkan aktivitas antiviral yang tinggi.

KESIMPULAN

Sesuai dengan tujuan penelitian dapat disimpulkan bahwa aktivitas antiviral terhadap virus AI H5N1 dari ekstrak maupun fraksi-fraksi dari rimpang tumbuhan kunci pepet

(*Kaemferia rotunda*), temugiring (*Curcuma heyneana* Val), lengkuas (*Alpinia galanga* Sw), dan temu ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb), menunjukkan ekstrak metanol kunci pepet, ekstrak metanol temu ireng, dan ekstrak metanol temu giring menunjukkan aktivitas rendah sebagai antiviral, sedangkan fraksi heksan kunci pepet dan fraksi heksan temu ireng menunjukkan aktivitas tinggi sebagai antiviral.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim., 2001. *Standar Pengawasan Program Bidang Kesehatan Pemberantasan Penyakit Menular*. Inspektorat Jenderal DepKes RI, hal 5.
- Antoniana U Krettli, Valter F Andrade-Neto, Maria das Graças L Brandão, Wanessa MS Ferrari, 2001, The Search for New Antimalarial Drugs from Plants Used to Treat Fever and Malaria or Plants Randomly Selected: a Review, *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 96(8): 1033-1042
- Claeson, P., Panthong, A., Tuchinda, P., Reutrakul, V., Kanjanapothi, D., Taylor, W.C., Santisuk, T. 1996, Non phenolic diarylheptanoids with antiinflammatory activity from *Curcuma xanthorrhiza*, *Planta Medika*, 59 (5), 451-454
- Cronquist A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, Columbia In Press, New York, 316 – 318
- Dharma AP., 1985, *Tanaman Obat Tradisional Indonesia*, P.N. Balai Pustaka, Jakarta, hal. 265-266.
- Dina Nawangningrum, Supriyanto Widodo, I Made Suparta, dan Munawar Holil, 2004, Kajian terhadap naskah kuno Nusantara koleksi Fakultas Ilmu Pengetahuan Budaya Universitas Indonesia: Penyakit dan Pengobatan amuan Tradisional, *MAKARA, SOSIAL HUMANIORA*, VOL. 8, NO. 2, AGUSTUS 2004: 45-53
- Endah E.R., 2004, Uji aktivitas secara *in vitro* sediaan rebusan irisan rimpang temu ireng terhadap *Ascaridia galli*, *Skripsi*, Sekolah Farmasi ITB.
- Gessler, M.C., Nkunya, M.H.N., Mwasumbi, LB., Heinrich, M., and Toner, M., 1994. Screening Tanzanian Medicinal Plants for Antimalarial Activity. *Acta. Trop.* 55, 65 - 67.
- Hartono, A. 1999, Terapi nutrisi dan herbal untuk kanker, *Intisari*, 435 (36): 44-53
- Heyne K. 1987, *Tumbuhan berguna Indonesia*, Badan Litbang Kehutanan, Jakarta, jilid III, 1390 – 1443
- Hwang, J.K., Shim, J.S., Pyun, Y.R., 2000, Antibacterial activity of xanthorrhizol from *Curcuma xanthorrhiza* against oral pathogens, *Fitoterapia*, 71(3), 321-323
- Khattak S., Rehman S., Shah U.H, Ahmad W. W., and Ahmad M., 2005, Biological effects of indigenous medicinal plants *Curcuma longa* and *Alpinia galanga*. *Fitoterapia* 76: 254-257.
- Matsuo, T., Toyota, A., Kanamori, H., Nakamura, K., Katsuki, S., Sekita, S., Sakate, M., 2002, Constituents of representative *Curcuma* and estimation of

- Curcuma species in health foods, *Hiroshima-ken Hoken Kakyō Senta Kenkyū Hokoku*, 10, 7-13 CAN 139:36749
- Muangnoi, P., Lu M., Lee J., Thepouyporn A., Mirzayans R., Le X.C., Weinfeld M., and Changbumrung S. 2007, Cytotoxicity, apoptosis and DNA damage induced by *Alpinia galanga* rhizome extract. *Planta Medica* 73:748-754.
- Ozaki, 1990; Nugraheni, W.P. 2001. *Kunci Pepet. Sidowayah* 34(9): 15-18.
- Park, S.Y., Kim, D.S.H.L., 2002, Discovery of natural products from *Curcuma longa* that protect cell from β -amyloid insult: A drug discovery effort against Alzheimer's disease, *J. Nat. Prod.*, 65(9), 1227-1231.
- Phongpaichit, S., Subhadhirasakul S., and Wattanapiromsakul C., 2005, Antifungal activities of extracts from Thai medicinal plants against opportunistic fungal pathogens associated with AIDS patients. *Mycoses*, 48: 333-338.
- Putu Satiawati 2005, Uji aktivitas secara *in vitro*, perasan temu hitam dan temu giring terhadap cacing *Ascaris suum*, *Skripsi*, Sekolah Farmasi ITB
- Rudiger, A.L., Siani, A.C., Junior, V.F. 2007. The chemistry and Pharmacology of the South American genus *Proteum* Bur.f. (Burseraceae). *Pharmacogn Rev* 1, 93 - 104.
- Sjamsul A.A; Hakim, E.H, Makmur L., Syah Y.M., Juliawaty L.D., Mujahidin D., 2007, Ilmu Kimia dan Kegunaan Tumbuhan-obat Indonesia, Jilid I, Penerbit ITB.
- Syamsuhidayat, S.S. dan Hutapea. 1993. *Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia (II)*. Departemen Kesehatan RI. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta.
- Wu, Y., Chen, Y., Xu, J., and Lu L. 2002. Anticancer activities of curcumin on human Burkitt's lymphoma, *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 24(4), 348-352.