

## KANDUNGAN FITOKIMIA DAN METODE UJI EKSTRAK GENDARUSSA (*Justicia gendarussa* Burm. F) SEBAGAI ANTI-HIV : ARTIKEL REVIEW

Hanifah Aryani<sup>1</sup>, Firmanul Hasan<sup>1</sup>, Waras Nurcholis<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, IPB University, Agatis St., IPB Dramaga Campus, 16680, Bogor, West Java, Indonesia

<sup>2</sup> Tropical Biopharmaca Research Center, IPB University, Taman Kencana St., IPB Taman Kencana Campus, Bogor, West Java, Indonesia  
Korespondensi: wnurcholis@apps.ipb.ac.id

### ABSTRAK

Pencarian pengobatan alternatif terbaru untuk HIV/AIDS terus berkembang. Salah satu pendekatan untuk pengembangan obat anti-HIV dilakukan melalui penelitian menggunakan obat herbal tradisional. *Justicia gendarussa* Burm. F terkenal memiliki banyak manfaat di bidang medis, seperti antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, analgesik, antikanker, antidiabetes, dan antiviral. Sebagai antiviral, ekstrak *J. gendarussa* teruji aktivitasnya secara *in silico* dan *in vitro* sebagai anti-HIV. Metode untuk uji secara *in silico*, yaitu menggunakan metode penambatan molekuler. Metode untuk uji secara *in vitro*, yaitu dengan uji pembentukan syncytia, uji antigen p24, dan uji *one stone two birds*. Review ini bertujuan untuk memberikan informasi terkait potensi ekstrak *J. gendarussa* sebagai pengobatan alternatif HIV/AIDS terbaru serta metode yang dapat digunakan untuk mengevaluasi aktivitasnya sebagai anti-HIV. Senyawa-senyawa pada *J. gendarussa* yang teruji aktivitasnya sebagai anti-HIV adalah justiprocumin A dan B, patentiflorin A, dan gendarusin A. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas anti-HIV lebih baik dibandingkan obat HIV zidovudine (AZT) dan nevirapine serta dapat menghambat isolat HIV yang resisten terhadap obat NRTI (*nucleoside reverse transcriptase inhibitor*) dan NNRTI (*non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor*).

Kata kunci: Anti-viral, gendarusin, *Justicia gendarussa*, justiprocumin, patentiflorin

### ABSTRACT

The search for renewable alternative treatments for HIV/AIDS continues to grow. One approach to developing anti-HIV drugs is through research using traditional herbal medicines. *Justicia gendarussa* Burm. F is known to have many benefits in the medical field, such as antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant, analgesic, anticancer, antidiabetic, and antiviral. As an antiviral, *J. gendarussa* extract has been tested for its activity *in silico* and *in vitro* as an anti-HIV agent. The method for *in silico* testing using the molecular docking method. Methods for *in vitro* testing are the syncytia formation test, p24 antigen test, and one stone two birds test. This review aims to provide information regarding the potential of *J. gendarussa* extract as a renewable alternative HIV/AIDS treatment and methods that can be used to evaluate its activity as anti-HIV. The compounds in *J. gendarussa* that have been tested for their anti-HIV activity are justiprocumin A and B, patentiflorin A, and gendarusin A. These compounds have better anti-HIV activity than the HIV drugs zidovudine (AZT) and nevirapine and can inhibit HIV isolates resistant to NRTI (*nucleoside reverse transcriptase inhibitor*) and NNRTI (*non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor*) drugs.

Keywords: Anti-viral, gendarusin, *Justicia gendarussa*, justiprocumins, patentiflorin

## PENDAHULUAN

*Human Immunodeficiency Virus - Acquired Immunodeficiency Syndrome* (HIV-AIDS) merupakan penyakit yang mematikan di dunia dan menjadi masalah global sampai saat ini [1]. Menurut laporan dari WHO jumlah pengidap HIV pada tahun 2021 sebanyak 38.400.000 orang dengan penambahan kasus baru di tahun 2021 sebanyak 1.500.000 orang dan 650.000 orang meninggal [2]. Berdasarkan data dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2022 diketahui bahwa sampai dengan bulan Maret 2022, jumlah kumulatif sebanyak 329.581 orang terkonfirmasi HIV di Indonesia, sedangkan jumlah kumulatif AIDS sebanyak 137.397. Jumlah kasus tersebut menunjukkan bahwa kasus HIV/AIDS di Indonesia masih tinggi [3]. HIV adalah salah satu dari retrovirus yang menyerang sistem kekebalan tubuh dari manusia. HIV dapat merusak sistem kekebalan tubuh dengan cara menghancurkan sel limfosit T pada sel darah putih. Sel limfosit T pada permukaannya terdapat reseptor *cluster of differentiation 4* (CD4), sel limfosit T-CD4 inilah yang bertanggung jawab atas sistem kekebalan tubuh manusia. Apabila jumlah sel limfosit T-CD4 rendah, maka seseorang akan lebih rentan terhadap infeksi tertentu. Sistem kekebalan tubuh akan rusak seiring bertambahnya jumlah virus didalam tubuh [4]. Tahap akhir dari infeksi HIV adalah AIDS, yaitu ketika CD4 turun ke tingkat yang sangat rendah (biasanya  $< 200$  sel/mm<sup>3</sup>), sehingga kemampuan untuk melawan infeksi tertentu secara serius terganggu [5].

Sampai saat ini obat anti-HIV yang berpotensi dan teruji klinis di dunia masih sedikit sedangkan di Indonesia belum ditemukan. Hal inilah yang menyebabkan angka kematian akibat HIV begitu tinggi di dunia. Obat anti-HIV yang pertama dikembangkan, yaitu zidovudine (AZT) dan disetujui pada tahun 1987. Saat ini, lebih dari 40-an obat yang sudah memperoleh persetujuan dari Food and Drug Administration (FDA) atau Badan Pengawas Obat dan Makanan Amerika Serikat. Obat-obat ini diklasifikasikan sebagai *non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors* (NNRTIs), *nucleoside reverse transcriptase inhibitors* (NRTIs), dan *protease inhibitors* (PIs). Meskipun obat ini mempunyai fungsi yang signifikan untuk memperpanjang masa hidup orang yang terkonfirmasi positif HIV, namun

obat-obat tersebut tidak dapat menghilangkan virus dari pasien yang terinfeksi HIV. Obat-obat ini juga memiliki potensi efek samping dan menunjukkan penurunan efektivitas pada penggunaan kronis karena pengembangan obat-obatan [6]. Salah satu pendekatan untuk pengembangan untuk obat anti-HIV dapat dilakukan melalui penelitian obat tradisional. Penelitian tentang obat tradisional bertujuan untuk mencari bukti ilmiah tentang keefektifan obat tradisional tersebut. Salah satu dari banyak tanaman obat yang sedang dikembangkan sebagai anti-HIV adalah tanaman gendarussa. Tanaman gendarussa (*Justicia gendarussa* Burm. F.) adalah salah satu tanaman obat yang tumbuh secara liar, banyak ditemukan di hutan di wilayah Asia Tenggara, seperti Malaysia, Thailand, Filipina serta Indonesia, dan sudah lama dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Bagian daun dari tanaman gendarussa mengandung amina aromatik yang tersubstitusi [7], glikosida flavonoid, yaitu gendarusin A dan gendarusin B [8], dan alkaloid Justidrusamida A, B, C, dan D [9]. Dari semua kandungan yang berada pada daun gendarussa, komponen yang utama dalam ekstrak etanol 70% adalah senyawa glikosida flavonoid apigenin, yaitu Gendarusin A [1]. Senyawa flavonoid diketahui berperan sebagai sumber alami anti-HIV yang digunakan untuk terapi penderita [10], [11]. Hasil percobaan secara *in vitro* menggunakan ekstrak etanol 70%, ekstrak etanol 70% ter-fraksinasi, dan ekstrak air daun dari tanaman gendarussa juga menunjukkan aktivitas menghambat enzim *reverse transcriptase* HIV [12]. Pengujian ekstrak daun gendarussa terhadap kultur sel MOLT-4 (*T lymphoblast cell line*) yang terinfeksi HIV juga menunjukkan bahwa daun gendarussa dapat menghambat replikasi HIV dengan menurunkan jumlah protein 24 (p24) dan menghambat pembentukan *syncytia* [13].

Review ini bertujuan untuk memberikan informasi dan tambahan pengetahuan terkait potensi ekstrak gendarussa sebagai pengobatan alternatif HIV/AIDS serta metode yang digunakan untuk mengevaluasi aktivitasnya sebagai anti-HIV. Review ini menjadi sangat penting dikarenakan berkesinambungan dengan keadaan saat ini dimana kasus HIV/AIDS di dunia dan di Indonesia masih sangat tinggi sedangkan sumber obat relatif sedikit dan obat yang tersedia saat ini juga memiliki potensi efek samping.

## METODE PENELITIAN

Metode penulisan artikel review ini adalah studi literatur yang berfokus pada kandungan fitokimia *J. gendarussa* yang memiliki aktivitas sebagai anti-HIV serta metode-metode ujinya. Artikel penelitian dikumpulkan dari beberapa situs pencarian artikel terpercaya meliputi Scencedirect, Researchgate, ACS Publication, Pubmed Central, National Library of Medicine National Institute of Health National Center of Biotechnology Information (NIH NCBI), dan Google Scholar. Studi literatur ini menggunakan artikel penelitian ilmiah dengan rentang tahun publikasi adalah 2012 sampai dengan tahun 2022. Kata kunci pencarian yang digunakan meliputi adalah (*Justicia gendarussa*), (*Justicia gendarussa*) AND (phytochemical), dan (*Justicia gendarussa*) AND (phytochemical) AND (anti-HIV). Tipe artikel yang dipilih adalah artikel penelitian.

Berdasarkan kriteria di atas, diperoleh beberapa artikel yang sesuai dengan kriteria di atas kemudian dilakukan seleksi kembali berdasarkan relevansi artikel dengan topik yang diangkat. Artikel yang tidak berhubungan dengan kandungan fitokimia, metode, dan aktivitas anti-HIV *J. gendarussa* tidak dipertimbangkan untuk ekstraksi data. Ekstraksi data dilakukan dengan pemaparan kandungan fitokimia, aktivitas anti-HIV ekstrak *J. gendarussa*, dan metode uji secara *in vitro* dan *in silico* aktivitas anti HIV *J. gendarussa*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kandungan Fitokimia

Gendarussa (*Justicia Gendarussa* Burm. F) adalah salah satu tanaman dari famili *Acanthaceae* dan juga merupakan tanaman obat yang berada di Indonesia. Gambar 1 merupakan tanaman gendarussa. Gendarussa adalah tanaman berupa perdu dengan daun yang panjang serta tinggi berkisar antara 0,8 sampai dengan 1,5 m dan tumbuh liar di hutan. Selain di Indonesia, tanaman gendarussa juga banyak digunakan di negara asia lainnya seperti Malaysia, India, serta Srilanka [14]. Berikut adalah klasifikasi dari tanaman gendarussa :

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Scrophulariales
Famili	: Acanthaceae
Genus	: <i>Justicia</i>
Spesies	: <i>Justicia gendarussa</i> Burm. F

Fungsi farmakologis tanaman obat bergantung pada kandungan senyawa bioaktif dari tanaman obat itu sendiri. Tanaman gendarussa memiliki kandungan senyawa aktif seperti fenol, tanin, saponin, dan flavonoid [15]. Pada bagian batang gendarussa memiliki kandungan tanin, flavonoid, glikosida, dan senyawa fenolik [16]. Daun gendarussa mengandung senyawa aktif antara lain karotenoid, alkaloid, fenolik, flavonoid, asam triterpenin, dan karbohidrat [17]. Senyawa kelompok flavonoid yang terdapat pada tanaman gendarussa adalah gendarusin A yang merupakan senyawa flavonoid mayor pada tanaman obat gendarussa sedangkan senyawa flavonoid minornya adalah gendarusin B [18]. Tanaman obat gendarussa mengandung justisin, yaitu suatu senyawa golongan alkaloid,

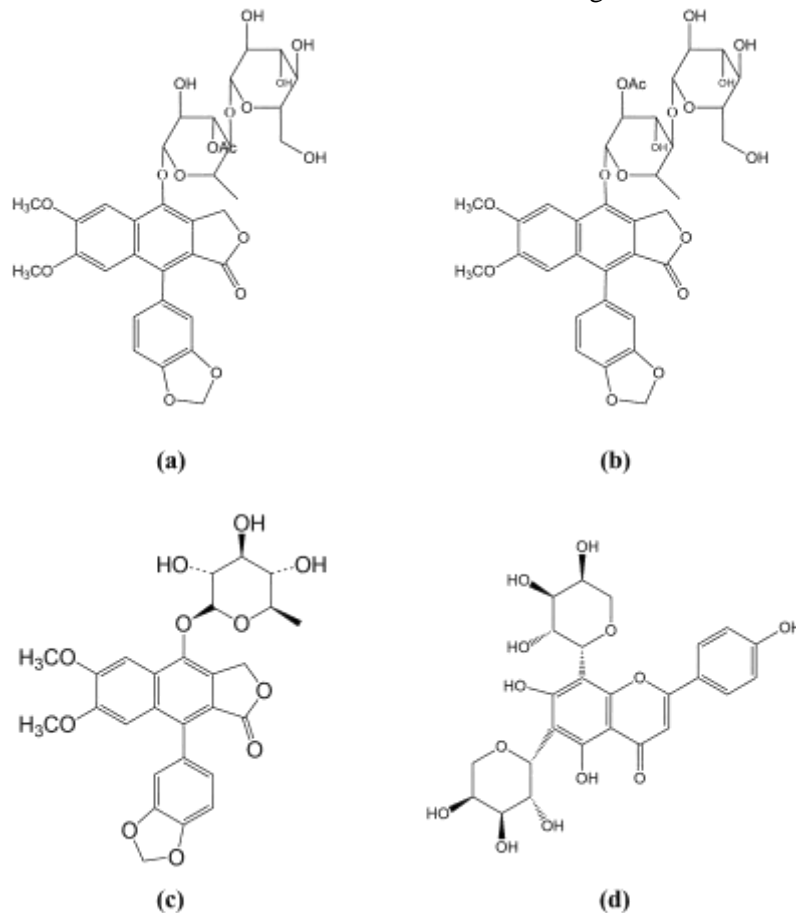


Gambar 1. Tanaman gendarussa (*Justicia gendarussa* Burm. F)

flavonol-3-glikosida, flavon, luteolin, isoorientin (luteolin-6-C-glikosida), kumarin, triterpen atau sterol, minyak atsiri, dan kalium [19].

Gendarussa memiliki kandungan fitokimia dengan aktivitas yang dapat dimanfaatkan sebagai alternatif obat diantaranya, yaitu antioksidan, hepatoprotektif, antiinflamasi, antihelmintik, antiangiogenik, antimikroba, analgesik, antiartritik, serta antiansietas [16], [20]. Selain manfaat yang sudah disebutkan sebelumnya, gendarussa juga memiliki aktivitas lain seperti fitoestrogen, antinociceptik, dan juga

sebagai antiarthritis. Aktivitas sitotoksik ekstrak daun gendarussa memiliki hubungan terhadap sel kanker payudara [21]. Tanaman obat gendarussa juga memiliki aktivitas antibakteri karena mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, dan alkaloid [22].



**Gambar 2.** a) senyawa justiprocumin A, (b) justiprocumin B, (c) patentiflorin A, dan (d) gendarusin A

Pada umumnya, tanaman gendarussa dapat dijadikan sebagai pagar hidup. Selain itu, tanaman gendarussa juga berkhasiat bagi tubuh. Daun gendarussa berkhasiat mengatasi luka luar memar pada kulit, bengkak, dan sakit pinggang. Sedangkan untuk pengobatan dalam, daunnya dapat berkhasiat mengatasi sakit kepala, rematik sendi, dan sembelit [23]. Daun gendarussa sebagai pengobatan rematik dapat direbus sebanyak 30-60 gram dengan menggunakan air sebanyak 3 gelas, dipanaskan sampai air rebusan gendarussa tersisa 1 gelas, setelah didinginkan lalu disaring, kemudian diminum [23]. Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, daun gendarussa mempunyai aktivitas antifertilitas. Infusa daun gendarussa dapat

menyebabkan perubahan pada jaringan tubulus seminiferus tikus putih dan mampu menghambat secara proporsional spermatogenesis tikus [19].

Penelitian lain menyebutkan bahwa ekstrak etanol gendarussa secara nyata dapat menghambat replikasi HIV, sehingga dapat dikatakan gendarussa memiliki aktivitas anti-

HIV [24]. Pada uji *in vitro* menggunakan ekstrak etanol 70% baik yang terfraksinasi dan yang tidak, ekstrak daun gendarussa menunjukkan aktivitas menghambat enzim *reverse transcriptase* HIV [9]. Bahan alam khususnya golongan polifenol, memiliki aktivitas anti-HIV yang dapat bekerja dalam menghambat siklus HIV yang meliputi adsorpsi virus, fusi sel virus, *reverse transcriptase*, integrasi, pembelahan proteolitik, glikosilasi, dan perakitan/pelepasan sel [25].

#### **Ekstrak Gendarussa sebagai anti-HIV**

Gendarussa telah diketahui secara luas sebagai obat-obatan herbal di wilayah Asia seperti Indonesia, Tiongkok, Thailand, Vietnam, Sri Lanka, India, dan Pakistan [26]. Gendarussa

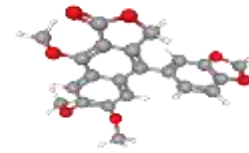


nilai  $IC_{50}$  495 nM. Senyawa justiprocumin B berpotensi sebagai obat yang dapat menghambat isolat HIV resisten NRTI dan NNRTI [26].

Senyawa ANL glikosida lainnya dari ekstrak metanol batang dan akar gendarussa adalah senyawa patentiflorin A sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2c yang juga menunjukkan aktivitas anti-HIV dengan nilai  $IC_{50}$  24-37 nM pada pengujian dengan isolat HIV-1 BAL dan SF162 (M-tropik), LAV0.04 (T-tropik), dan 89.6 (dual tropik). Jika dibandingkan dengan nilai  $IC_{50}$  AZT 77-95 nM, patentiflorin A lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan keempat isolat HIV-1. Patentiflorin A juga teruji dapat menghambat isolat resisten NRTI dan NNRTI [31].

Senyawa lain yang berhasil diekstrak dari daun gendarussa adalah gendarusin A yang ditunjukkan pada Gambar 2d. Glikosida flavonoid gendarusin A diperoleh dari fraksi polar (metanol dan etanol). Gendarusin A memiliki aktivitas anti-HIV yang kuat ketika diujikan terhadap plasma darah penderita HIV dengan nilai *viral load*  $3,1 \times 10^6$  salinan/mL pada konsentrasi 793 ppm dibandingkan dengan kontrol negatif, yaitu titer pasien HIV dengan *viral load*  $7,7 \times 10^6$  salinan/mL. Nilai  $IC_{50}$  dari gendarusin A adalah 235,3 ppm [32]. Terdapat pula senyawa alkaloid bebas dari ekstrak etanol 70% yang diekstrak dari daun gendarussa diujikan terhadap enzim *reverse transcriptase* HIV menunjukkan persen inhibisi sebesar 130,5% pada konsentrasi 15 ppm [1].

Aktivitas inhibisi senyawa flavonoid gendarusin A, gendarusin B, gendarusin C, gendarusin D, dan gendarusin E yang diilustrasikan pada Gambar 3 dari daun gendarussa juga diuji secara *in silico*. Profiling keamanan lima senyawa gendarusin dilakukan dengan menggunakan program FAF-Drugs4 berdasarkan Pfizer 3/75 Rule Positioning menunjukkan bahwa lima senyawa gendarusin tidak bersifat toksik untuk digunakan sebagai obat. Lima senyawa gendarusin memiliki bioavailabilitas oral yang baik dibuktikan dengan nilai ikatan rotasi = 3; nilai topological polar surface area (tPSA) 233,57 Å; nilai donor HB dan akseptor HB masing-masing 9 dan 13; dan nilai logP -2,12. Hasil skor penambatan senyawa gendarusin terhadap reseptor protease (4HLA) menunjukkan bahwa rerank score terbaik adalah gendarusin B dengan nilai -102.706 [33].



Gambar 4. Struktur tiga dimensi senyawa glikosida ANL

#### Metode Uji Anti-HIV Ekstrak *J. gendarussa* *in silico*

Uji *in silico* menjadi penting untuk dilakukan, hal ini dikarenakan untuk memperoleh senyawa yang aman dan efektif untuk dijadikan kandidat obat. Uji *in silico* juga dapat memberikan penghematan yang bagus dari segi biaya maupun waktu [34]. Uji *in silico* senyawa gendarusin dari daun gendarussa telah dilakukan untuk memprediksi ADMET (absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas) ligan serta untuk memprediksi interaksi penghambatan senyawa-senyawa gendarusin terhadap protease HIV-1 [33].

Program yang digunakan untuk memprediksi ADMET ligan, yaitu FAF-Drugs4 daring. Program ini digunakan untuk mengetahui berat molekul, logP, tPSA, dan ikatan rotasi sehingga dapat memprediksi kemampuan absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas senyawa gendarusin. Hasil percobaan *in silico* dengan program FAF-Drugs4 menunjukkan bahwa gendarusin A, gendarusin B, gendarusin C, gendarusin D, dan gendarusin E memiliki bioavailabilitas oral yang baik dan tidak bersifat toksik, sehingga bisa berpotensi dikembangkan sebagai anti-HIV. Senyawa gendarusin A, gendarusin B, gendarusin C, gendarusin D, dan gendarusin E memiliki nilai ikatan rotasi = 3; nilai tPSA = 233,57 Å; nilai donor HB dan akseptor HB masing-masing 9 dan 13. Berdasarkan aturan *Veber*, nilai ikatan rotasi, nilai tPSA, nilai donor dan akseptor HB yang dapat diterima untuk dikatakan bahwa senyawa memiliki bioavailabilitas oral yang baik, yaitu masing-masing  $\leq 10$ ; 140 Å; dan 12 [33], [35].

Program yang digunakan untuk memprediksi interaksi penghambatan senyawa gendarusin A, gendarusin B, gendarusin C, gendarusin D, dan gendarusin E terhadap protease HIV-1, yaitu dengan metode penambatan molekuler menggunakan program Molegro Virtual Docker.

Pengerjaan pertama pada uji *in silico* adalah preparasi struktur protein dan ligan. Struktur protein yang digunakan adalah 4HLA yang merupakan struktur reseptor protease HIV-1 sedangkan struktur ligan yang digunakan adalah struktur 2D gendarusin A, gendarusin B, gendarusin C, gendarusin D, dan gendarusin E yang digambar melalui program ChemBioDraw Ultra 12.0. Gambar 3 merupakan gendarusin A, gendarusin B, gendarusin C, gendarusin D, dan gendarusin E. Masing-masing struktur tersebut kemudian dijadikan struktur 3D dengan menggunakan program ChemBio3D Ultra 12.0 [33].

Hasil percobaan *in silico* dengan program Molegro Virtual Docker menunjukkan bahwa gendarusin A, gendarusin B, gendarusin C, gendarusin D, dan gendarusin E memiliki aktivitas sebagai protease inhibitor HIV-1. Gendarusin B memiliki aktivitas inhibisi protease HIV-1 tertinggi dibandingkan senyawa gendarusin lainnya berdasarkan *rerank score*-nya yang rendah dengan urutan gendarusin B < gendarusin D < gendarusin C < gendarusin E < gendarusin A. [33]. *Rerank score* merupakan parameter yang digunakan untuk memprediksi energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptornya. *Rerank score* yang rendah menandakan bahwa ikatan antara ligan dengan reseptor semakin stabil [36]

Pengujian aktivitas anti-HIV senyawa alkaloid dan flavonoid dari ekstrak daun gendarussa dengan reseptor interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) dilakukan secara *in silico* menggunakan program Molegro Virtual Docker. Percobaan diawali dengan persiapan ligan dan protein reseptor. Struktur senyawa alkaloid dan flavonoid ditentukan oleh *software* ChemBioOffice Ultra versi 12.0, sedangkan struktur reseptor IFN- $\gamma$  diperoleh dari Protein Data Bank dengan kode 2R3Z. Berdasarkan simulasi penambatan molekuler, diketahui bahwa senyawa alkaloid pada daun gendarussa memiliki efek yang lebih tinggi untuk menginduksi reseptor IFN- $\gamma$  dibandingkan dengan senyawa flavonoid pada daun gendarussa karena *rerank score* alkaloid < flavonoid pada daun gendarussa [37].

#### ***in vitro***

#### **Uji Pembentukan Syncytia**

Syncytia merupakan sel multinuklear raksasa hasil dari fusi antar sel yang menyebabkan kematian sel. Syncytia terbentuk

ketika molekul CD4 yang ditemukan pada permukaan sel T yang tidak terinfeksi berinteraksi dengan protein permukaan virus (gp120) [38]. Ekstrak etanol 70% terfraksinasi dan ekstrak etanol 70% dari daun gendarussa mampu menghambat proses replikasi virus sehingga produksi gp120 pada permukaan sel inang tidak terjadi. Hal ini menyebabkan interaksi antara gp120 dengan molekul CD4 pada permukaan sel T yang tidak terinfeksi tidak terjadi sehingga syncytia tidak terbentuk [24].

Aktivitas anti-HIV ekstrak etanol 70% daun gendarussa diujikan pada sel MOLT-4 yang telah terinfeksi HIV berdasarkan pembentukan syncytia. Uji dilakukan di 96-well microplate dengan tiga kali pengulangan untuk sel dengan perlakuan dan tanpa perlakuan penambahan ekstrak etanol 70% gendarussa. Pengujian dilakukan dalam inkubator dengan kadar CO<sub>2</sub> sebesar 5%. Sebanyak 100 mL ekstrak etanol 70% gendarussa dimasukkan dalam 96-well microplate kemudian ditambahkan larutan 50 mL sel MT-4/HIV dengan konsentrasi  $2 \times 10^4$  sel/mL dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah 30 menit inkubasi, ditambahkan sel MOLT-4 dengan konsentrasi  $4 \times 10^5$  sel/mL dan diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 72 jam. Syncytia dengan  $\geq 4$  nukleus per sel diamati dan dihitung menggunakan *inverted microscope*. Ekstrak etanol 70% terfraksinasi dan ekstrak etanol 70% daun *J. gendarussa* yang telah diujikan mampu menghambat pembentukan syncytia dengan nilai konsentrasi efektif 50% (EC<sub>50</sub>) sebesar 70,5  $\mu\text{g/mL}$  dan 228,7  $\mu\text{g/mL}$  [24].

#### **Uji Antigen p24**

Kondisi ketika tubuh pertama kali terinfeksi HIV sebelum tubuh mempersiapkan antibodi untuk melawan virus menyebabkan tingginya level protein 24 HIV (p24) sehingga dapat dijadikan metode untuk skrining HIV [39]. Antigen p24 merupakan protein penting pada partikel retrovirus berupa kapsid yang mengelilingi genom RNA virus. Antigen p24 dapat terdeteksi pada awal infeksi dimana RNA belum dapat terdeteksi pada serum atau plasma darah [40].

Pengujian antigen p24 terhadap ekstrak etanol 70% terfraksinasi dan ekstrak etanol 70% daun gendarussa dilakukan dengan menggunakan suspensi sel MOLT-4 dari uji pembentukan syncytia. Suspensi sel sebanyak 200 mL dipindahkan ke tabung Eppendorf steril 1.5 mL. Suspensi sel diinaktivasi menggunakan



etanol 70% selama 1 jam. Supernatan diambil untuk dilakukan pengujian antigen p24 dengan ELISA (HIV-1 p24 ELISA kit, Xpress-Bio, USA). p24 diukur berdasarkan absorbansi yang dibaca pada panjang gelombang 450 nm [24].

Ekstrak etanol 70% terfraksinasi dan ekstrak etanol 70% daun gendarussa terbukti mampu mengurangi jumlah antigen p24 HIV pada sel MOLT-4. Penurunan jumlah antigen p24 menunjukkan bahwa replikasi HIV pada sel MOLT-4 terhambat. Ekstrak etanol 70% dari daun gendarussa terbukti memiliki aktivitas antivirus yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol 70% dari daun gendarussa karena nilai  $EC_{50}$  yang lebih rendah dari 100  $\mu\text{g/mL}$ , yaitu 88,8  $\mu\text{g/mL}$  [24].

### Uji *One Stone Two Birds*

Uji *One Stone Two Birds* dilakukan untuk menguji kemampuan ekstrak tanaman dalam menghambat replikasi virus seperti HIV dan influenza. Penurunan kadar luciferase pada sel target yang terinfeksi menjadi indikator tingkat penghambatan ekstrak tanaman terhadap virus yang diujikan. Ekstrak tanaman yang tidak menginduksi terjadinya efek sitopatik dan menurunkan level luciferase jika dibandingkan dengan kontrol dapat dikatakan mampu menghambat replikasi virus [41].

Pengujian *One Stone Two Birds* dilakukan terhadap senyawa patentiflorin A yang diekstrak dari akar dan batang gendarussa. Stok virion replikasi HIV/hemagglutinin (HA) sebanyak  $2 \times 10^4$  RLU dicampurkan dengan ekstrak gendarussa. Campuran diinkubasi bersamaan dengan sel target dalam 24 well plates selama 24 jam. Sel target yang digunakan adalah sel paru-paru manusia A549 karena rentan terhadap infeksi virus yang dimediasi HA. Dua puluh empat (24) jam setelah pasca infeksi, media yang mengandung sampel dan virus dikeluarkan dari sel target dan diganti dengan *Dulbecco's modified Eagle medium* (DMEM). Empat puluh delapan jam (48) jam setelah pasca infeksi, sel target dilisiskan dan ditentukan aktivitas luciferase. Berdasarkan uji *One Stone Two Birds*, diketahui bahwa senyawa patentiflorin A yang diekstrak dari akar dan batang gendarussa mampu menghambat perkembangan HIV. Nilai  $IC_{50}$  senyawa patentiflorin A, yaitu 27 nM [31].

### SIMPULAN

Senyawa-senyawa fitokimia yang ditemukan pada tanaman gendarussa telah teruji

aktivitasnya sebagai anti-HIV baik uji secara *in silico* dan *in vitro*. Secara *in silico*, senyawa gendarusin B memiliki aktivitas tertinggi sebagai protease inhibitor HIV-1. Secara *in vitro*, senyawa justiprocumin A dan B, patentiflorin A, dan gendarusin A yang diekstraksi dari bagian daun, batang, dan akar gendarussa memiliki aktivitas antiviral yang dapat menghambat perkembangan HIV dalam tubuh. Senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat enzim *reverse transcriptase* HIV dan menghambat berkembangnya HIV resisten NRTI dan NNRTI. Berdasarkan beberapa uji yang telah dilakukan, tanaman gendarussa memiliki potensi sebagai pengobatan alternatif HIV/AIDS.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi, Republik Indonesia untuk pendanaan Penelitian Dasar Kompetitif Nasional (No: 3615/IT3.L1/PT.01.03/P/B/2022)

### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Prajogo, Bambang., Prihartini Widiyanti, Hafrizal Riza. 2016. Effect of Free Alkaloid and Non-Free Alkaloid Ethanol 70% Extract of Justicia Gendarussa Burm F. Leaves Against Reverse Transcriptase Hiv Enzyme in Vitro and Chemical Compound Analysis. *Indones. J. Trop. Infect. Dis.* 5 (7).
- [2] WHO. Global Health Observatory (GHO) Data: HIV/AIDS.
- [3] K. K. R. Indonesia. 2022. Laporan Situasi Perkembangan HIV&AIDS di Indonesia sampai dengan Maret 2022. [https://siha.kemkes.go.id/portal/files\\_upload/Laporan\\_TW\\_1\\_2022.pdf](https://siha.kemkes.go.id/portal/files_upload/Laporan_TW_1_2022.pdf) (accessed Nov. 30, 2022).
- [4] Naif, Hasan M. 2013. Pathogenesis of HIV Infection. *Infect. Dis. Rep.* 5 (1).
- [5] Pattman, R, N. Sankar, B. Elawad, and D. A. Price. 2010. *Oxford Handbook of Genitourinary Medicine, HIV, and Sexual Health* : OUP Oxford.
- [6] FDA. 2020. HIV and AIDS : Medicines to help you. <https://www.fda.gov/consumers/freepubl>



- ications-women/hiv-and-aids-medicines-help-you (accessed Nov. 30, 2022).
- [7] Chakravarty, Ajit Kumar, Partha Pratim Ghosh Dastidar, Satyesh Chandra Pakrashi. 1982. Simple aromatic amines from *justicia gendarussa*. <sup>13</sup>C NMR spectra of the bases and their analogues. *Tetrahedron*. 38 (12) hal 1797–1802,
- [8] Prajogo, Bambang., D. Guliet, Emerson Queiroz. 2009 Isolation of male antifertility compound in n-butanol fraction of *Justicia gendarussa* Burm F leaves. *Folia Medica Indones*. 45, hal 28–31.
- [9] Kiren, Yuko., Jun Deguchi, Yusuke Hirasawa, Hiroshi Morita, Bambang Prajogo. 2014. Justidrusamides A-D, new 2-aminobenzyl alcohol derivatives from *Justicia gendarussa*. *J. Nat. Med.* 68 (4).
- [10] Ko, Yeon-Ju., Hyun-Jeong Oh, Ahn, Hyo-Min Ahn, Ho-Jung Kang, Jung-Hyun Kim, Young Hwan Ko. 2009. Flavonoids as potential inhibitors of retroviral enzymes,” *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 52 (4).
- [11] Veljkovic, Veljko., Jean-François Mouscadet, Nevena Veljkovic, Sanja Glisic, Zeger Debyser. 2007. Simple criterion for selection of flavonoid compounds with anti-HIV activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17 (5).
- [12] Woradulayapini, Warunya., Noppamas Soonthornchareonnon, Chanpen Wiwat. 2005. In vitro HIV type 1 reverse transcriptase inhibitory activities of Thai medicinal plants and *Canna indica* L. rhizomes. *J. Ethnopharmacol.* 101 (1-3)
- [13] Widiyanti, Prihartini., Bambang Prajogo, Ni Putu Ermi Hikmawati. 2016. Cytotoxicity of *Justicia Gendarussa* Burm F. Leaf Extracts on Molt-4 Cell. *Indones. J. Trop. Infect. Dis.* 6 (1).
- [14] Vijayakumar, A. S., Mani Jeyaraj, Muniraj Selvakumar, Elangovan Abirami. 2019. Pharmacological Activity of Silver Nanoparticles, Ethanolic Extract From *Justicia Gendarussa* (Burm) F Plant Leaves. *Res. J. Life Sci. Bioinformatics, Pharm. Chem. Sci.* 5.
- [15] Akpriyanti, DG Ika., Wimpie Pangkahila, IGM Aman. 2017. Pemberian Ekstrak Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. f.) Menurunkan Kadar F2-Isoprostan Urin Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Diinduksi Latihan Fisik Berlebih. *J. Biomedik.* 9 (3)
- [16] Putri, Vina Aulia., Zulharmita, Ridho Asra, Boy Chandra. 2020. Overview of Phytochemical and Pharmacological of Gandarussa Extract (*Justicia Gendarussa* Burm). *EAS J. Pharm. Pharmacol.* 2 (5)
- [17] Patel, Sonal., K. Nayana, S. Bakula, and S. Mamta. 2011. Botanical identification and physicochemical investigation of leaf of Nili-Nirgundi (*Justicia Gendarussa*). *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 10.
- [18] Hesturini, Rosa Juwita., Rina Herowati, Gunawan Pamudji Widodo. 2017. Uji Aktivitas Analgetika Fraksi-Fraksi Ekstrak Etanol Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. f) dengan Metode Tail Flick. *J. Farm. Indones.* 15 (1)
- [19] Sudarsono, P. N., D. Gunawan, S. Wahyuono, I. A. Donatus. 2002. *Tumbuhan Obat II (Hasil penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan)*. Yogyakarta : PPOT UGM.
- [20] Letchuman, Sarvananda., Samer Salim, Jijy Rohini, Balasubramania Sathyamurthy. 2019. Molecular Identification Of The Medicinal Plant *Justicia Gendarussa* Using Matk Gene.
- [21] Ayob, Zahidah., Siti Pauliena Mohd Bohari, Azman Abd Samad, Shajarahtunnur Jamil. 2014. Cytotoxic Activities against Breast Cancer Cells of Local *Justicia gendarussa* Crude Extracts. *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.*
- [22] Sivasakthi, A., dan Vijayalakshmi. 2014.

- An in vitro study of antibactericidal activity of some secondary metabolites rich fraction from the leaves of *Justicia gendarussa*. *Int J Ethomed Pharmacol Res.* 2
- [23] Dalimartha, Setiawan. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonsia Jilid 1*. Ungaran: Trubus Agriwidya.
- [24] Hikmawanti, Ni Putu Ermi., Prihartini Widiyanti, Bambang Prajogo. 2020. In vitro anti-HIV activity of ethanol extract from gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. f) leaves. *Infect. Dis. Rep.* 12 (1)
- [25] Andrae-Marobela, Kerstin., Fotso Wabo Ghislain, Harriet Okatch, Runner R T Majinda. 2013. Polyphenols: a diverse class of multi-target anti-HIV-1 agents. *Curr. Drug Metab.* 14 (4)
- [26] Zhang, Hong Jie., Emily Rumschlag-Booms, Yi Fu Guan, Kang Lun Liu, Dong Ying Wang, Wan Fei Li, Van Hung Nguyen, Nguyen Manh Cuong, Djaja Doel Soejarto, Harry H.S. Fong, Lijun Rong. 2017. Anti-HIV diphyllin glycosides from *Justicia gendarussa*. *Phytochemistry.* 136.
- [27] Sangeetha, Sridevi., K. Kavitha, K. Sujatha, and S. Umamaheswari. 2014. Phytochemical and Pharmacological Profile of *Justicia gendarussa* Burm f. – Review. *J. Pharm. Res.* 8.
- [28] Yang, Meihua., Jun Wu, Fan Cheng, Yuan Zhou. 2006. Complete assignments of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR data for seven arylnaphthalide lignans from *Justicia procumbens*. *Magn. Reson. Chem.* 44 (7)
- [29] Liu, Guorui., Jun Wu, Jianyong Si, Junmei Wang, Meihua Yang. 2008. Complete assignments of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR data for three new arylnaphthalene lignan from *Justicia procumbens*. *Magn. Reson. Chem.* 46 (3)
- [30] Eckard, Peter., Ulrich Abel, Hans-Falk Rasser, Werner Simon, Bernd Sontag, Friedrich G Hansske. 2006. *Natural product-based, chemically and functionally diverse libraries*. Combinatorial Synthesis of Natural Product-Based Libraries: CRC Press.
- [31] Zhang, Hong Jie., Emily Rumschlag-Booms, Yi Fu Guan, Dong Ying Wang, Kang Lun Liu, Wan Fei Li, Van Hung Nguyen, Nguyen Manh Cuong, Djaja Doel Soejarto, Harry H.S. Fong, Lijun Rong. 2017. Potent Inhibitor of Drug-Resistant HIV-1 Strains Identified from the Medicinal Plant *Justicia gendarussa*. *J. Nat. Prod.* 80 (6)
- [32] Prajogo, Bambang., Prihartini Widiyanti, Nasronudin Nasronudin, Bimo Aksono. 2015. The Effect of Gendarussin a Isolates of *Justicia gendarussa* Burm.f. Leaf in Reverse Transcriptase Inhibition of HIV Type I In Vitro. *Indones. J. Trop. Infect. Dis.* 5 (5)
- [33] Widodo, Agustinus. 2019. Prediction of Pharmacokinetics Toxicity and Protease HIV-1 Inhibitor Activity of *J. gendarussa* Leaves. *J. Pharm. Sci. Pract.* 6 (1)
- [34] Yanuar, Arry., Abdul Mun'im, Akma Lagho, Rezi Riadhi Syahdi, Marjuqi. Rahmat, Heru Suhartanto. 2011. Medicinal Plants Database and Three Dimensional Structure of the Chemical Compounds from Medicinal Plants in Indonesia. *Int. J. Comput. Sci.* 8.
- [35] Veber, Daniel F., Stephen R Johnson, Hung-Yuan Cheng, Brian R Smith, Keith W Ward, Kenneth D Kopple. 2002. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *J. Med. Chem.* 45 (12).
- [36] Prasetyo, Andri., Esti Mumpuni, Raymond R. Tjandrawinata. 2019. Docking Molekular dari *Trigonella foenum-graceum* sebagai Antidiabetes menggunakan Molegro Virtual Docking. *J. Jamu Indones.* 4 (2)
- [37] Sinansari, Restry., Bambang Prajogo, Prihartini Widiyanti. 2018. In Silico Screening And Biological Evaluation of The Compounds of *Justicia Gendarussa*

- Leaves Extract as Interferon Gamma Inducer: A Study Of Anti Human Immunodeficiency Virus (HIV) Development. *African J. Infect. Dis.* 12 (1)
- [38] Genois, N., B. Barbeau, M. Olivier, and M. J. Tremblay. 2001. Inhibition of HIV-1-mediated syncytium formation and virus replication by the lipophosphoglycan from *Leishmania donovani* is due to an effect on early events in the virus life cycle. *Clin. Exp. Immunol.* 124 (1)
- [39] Gray, Eleanor R., Robert Bain, Olivia Varsaneux, Rosanna W Peeling, Molly M Stevens, Rachel A McKendry. 2018. p24 revisited: a landscape review of antigen detection for early HIV diagnosis. *AIDS (London, England)*. 32 (15)
- [40] Schüpbach, Jörg. 2003. Viral RNA and p24 antigen as markers of HIV disease and antiretroviral treatment success. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 132 (3)
- [41] Rumschlag-Booms, Emily., Hongjie Zhang, D. Doel Soejarto, Harry H.S.. Fong, Lijun. Rong. 2011. Development of an antiviral screening protocol: One-stone-two-birds. *J. Antivirals Antiretrovir.* 3 (1)