

**DISERTASI**

**POTENSI TUMBUHAN OBAT SUMATERA BARAT DALAM  
PENANGANAN COVID 19**



Oleh

**IRENE PUSPA DEWI**

**NIM. 2131012002**

**TIM PROMOTOR**

**Prof. apt. Dachriyanus, Ph.D.**

**Prof. apt. Fatma Sri Wahyuni, Ph.D.**

**Prof. Dr. apt. Yufri Aldi, M.Si.**

**PROGRAM STUDI FARMASI PROGRAM DOKTOR**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS ANDALAS**

**2024**

## ABSTRAK

Covid 19 merupakan penyakit pneumonia yang menjadi pandemi terbesar yang dialami manusia dalam beberapa dekade terakhir dengan morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Virus SARS-CoV-2 merupakan virus penyebab Covid 19 telah bermutasi dan menyebabkan penyakit lebih mudah menular, meningkatkan resiko reinfeksi dan mengurangi aktivitas vaksin, sehingga harus ditangani dengan baik.

Pendekatan imunomodulator merupakan penanganan yang masih menjadi pilihan untuk mengatasi Covid 19. Di awal infeksi, penanganan ditujukan untuk mengurangi penyebaran virus dengan senyawa imunostimulan, dan pada tahap lanjut, penanganan ditujukan untuk mengurangi resiko badai sitokin dengan senyawa immunosupresan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi tumbuhan obat Sumatera Barat untuk menangani Covid 19 dengan pendekatan imunomodulator.

Dilakukan skrining tumbuhan obat Sumatera Barat sebagai imunomodulator dengan metode *bioassay guided fractionation*. Sebanyak 21 ekstrak tumbuhan obat Sumatera Barat diskriminasi secara *in vitro* dengan parameter *cell viability*, sekresi IL-6 dan TNF- $\alpha$ , dan aktivitas fagositosis. Dari 21 ekstrak tersebut, dipilih ekstrak *Garcinia cowa* Roxb. sebagai tumbuhan obat yang akan diuji lebih lanjut. Hal ini didasarkan kemampuan ekstrak *Garcinia cowa* Roxb. yang tidak toksik terhadap sel Raw 264,7 pada konsentrasi 50  $\mu\text{g/mL}$ , mampu menekan sekresi IL-6 dan menghambat aktivitas fagositosis sel Raw 264,7, sehingga disimpulkan ekstrak *Garcinia cowa* Roxb. memiliki aktivitas sebagai anti inflamasi.

Ekstrak *Garcinia cowa* Roxb. difraksinasi dengan pelarut heksan, etil asetat dan butanol. Terhadap fraksi heksan, etil asetat dan butanol dilakukan skrining dengan parameter yang sama. Didapatkan hasil bahwa fraksi heksan pada dosis 25  $\mu\text{g/mL}$  tidak toksik terhadap sel Raw 264,7, mampu menekan sekresi IL-6 dan TNF- $\alpha$ , menghambat aktivitas fagositosis sel Raw 264,7, sehingga disimpulkan fraksi heksan memiliki aktivitas sebagai anti inflamasi.

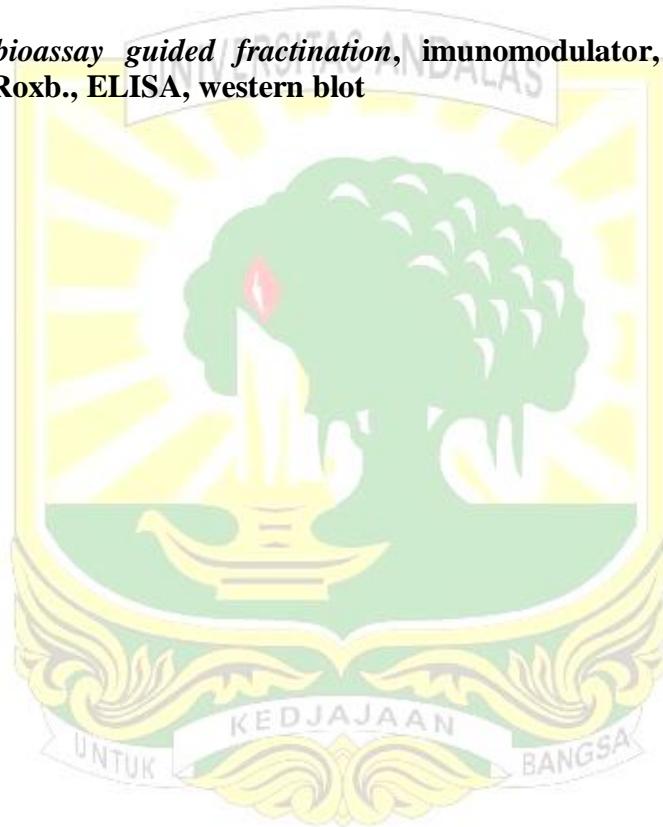
Fraksi heksan diisolasi dengan metode kromatografi kolom dan dimurnikan dengan kromatotron. Didapatkan 1 (satu) senyawa yaitu TPTQ dan 3 subfraksi. Senyawa TPTQ diidentifikasi secara organoleptis, KLT, spektrofotometri UV, dan HPLC dengan pembandingan standar TPTQ koleksi Laboratorium Penelitian. Hasil yang didapat, senyawa TPTQ hasil isolasi sesuai dengan standar. Terhadap salah satu dari 3 subfraksi dilakukan pemurnian dengan recycling HPLC, dan didapatkan senyawa cowanin.

Terhadap senyawa TPTQ dan cowanin dilakukan pengujian *in silico* dengan protein NF- $\kappa\text{B}$  (kode PDB: 2RAM) dengan tujuan memprediksi aktivitas imunomodulator senyawa isolat. Hasil yang didapat afinitas TPTQ dan cowanin dengan 2RAM lebih besar dibandingkan native ligan, sehingga dapat dikatakan bahwa TPTQ dan cowanin memiliki efek imunomodulator. Hasil *in silico* dibuktikan dengan pengujian *in vitro* dan *in vivo*. Pengujian *in vitro* dilakukan dengan parameter sitotoksitas senyawa terhadap sel raw 264,7, pengaruh senyawa terhadap sekresi IL-6 dan TNF- $\alpha$ , aktivitas fagositosis dan pengujian p-NF- $\kappa\text{B}$  dan p-IKB- $\alpha$ . Hasil pengujian *in vitro* yaitu senyawa TPTQ dan cowanin pada dosis 25  $\mu\text{g/mL}$  tidak toksik

terhadap sel Raw 264,7, senyawa isolat menekan sekresi IL-6 dan TNF- $\alpha$ , menghambat aktivitas fagositosis dan mengurangi aktivitas p-NF- $\kappa$ B dan p-IKB- $\alpha$ .

Dari hasil pengujian *in vivo* senyawa TPTQ didapatkan hasil bahwa TPTQ pada dosis 25 mg/kg BB memiliki aktivitas sebagai anti inflamasi karena dapat menekan konsentrasi NK cell, CD8+, dan IL-6 dalam serum darah mencit. Dari keseluruhan rangkaian penelitian yang dilakukan dapat diambil kesimpulan, tumbuhan obat Sumatera Barat yang berpotensi dikembangkan sebagai agen imunomodulator dalam penanganan Covid 19 adalah *Garcinia cowa* Roxb. dan senyawa dalam tumbuhan obat Sumatera Barat yang berpotensi dikembangkan sebagai agen imunomodulator dalam penanganan Covid 19 adalah TPTQ dan cowanin.

**Kata Kunci:** *bioassay guided fractionation*, imunomodulator, anti inflamasi, *Garcinia cowa* Roxb., ELISA, western blot



## ABSTRACT

COVID-19 is a pneumonia disease that has become the largest pandemic experienced by humans in the last few decades, with high morbidity and mortality. The SARS-CoV-2 virus, which causes Covid 19, has mutated and made the disease more easily transmitted, increasing the risk of reinfection and reducing vaccine activity, so it must be appropriately handled.

The immunomodulatory approach is a treatment still an option for dealing with Covid 19. At the beginning of the infection, treatment aims to reduce the spread of virus with immunostimulant compounds. At later stages, treatment aims to reduce the risk of cytokine storms with immunosuppressant compounds. This research aims to examine the potential of West Sumatran medicinal plants to treat Covid 19 using an immunomodulatory approach.

West Sumatran medicinal plants were screened as immunomodulators using the guided fractionation bioassay method. Twenty-one West Sumatran medicinal plant extracts were screened in vitro with the parameters of cell viability, IL-6 and TNF- $\alpha$  secretion, and phagocytic activity. Of the 21 extracts, *Garcinia cowa* Roxb. extract was selected as a medicinal plant that will be tested further. *Garcinia cowa* Roxb. extract not toxic to Raw 264.7 cells at a concentration of 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  and is able to suppress IL-6 secretion and inhibit the phagocytic activity of Raw 264.7 cells, so it is concluded that *Garcinia cowa* Roxb extract has anti-inflammatory activity.

*Garcinia cowa* Roxb. extract fractionated with hexane, ethyl acetate and butanol solvents. The hexane, ethyl acetate and butanol fractions were screened using the same parameters. The results showed that the hexane fraction at a dose of 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  was not toxic to Raw 264.7 cells, was able to suppress the secretion of IL-6 and TNF- $\alpha$ , inhibited the phagocytic activity of Raw 264.7 cells, so it was concluded that the hexane fraction had anti-inflammatory activity.

The hexane fraction was isolated using column chromatography and purified using a chromatotron. Obtained 1 (one) compound, namely TPTQ and 3 subfractions. The TPTQ compound was identified organoleptically, TLC, UV spectrophotometry, and HPLC using the TPTQ standard from the Laboratorium Penelitian collection. The results showed that the isolated TPTQ compound complied with the standards. One of the 3 subfractions was purified using HPLC recycling, and the cowanin compound was obtained.

The TPTQ and cowanin compounds were tested in silico with the NF- $\kappa\text{B}$  protein (PDB code: 2RAM) with the aim of predicting the immunomodulatory activity of the isolated compounds. The results obtained show that the affinity of TPTQ and cowanin with 2RAM is greater than that of the native ligand, so it can be said that TPTQ and cowanin have an immunomodulatory effect. The insilico results were proven by in vitro and in vivo testing. In vitro testing was carried out with the cytotoxicity parameters of the compound against raw 264.7 cells, the effect of the compound on the secretion of IL-6 and TNF- $\alpha$ , phagocytic activity and testing of p-NF- $\kappa\text{B}$  and p-IKB- $\alpha$ . The results of in vitro testing were that the TPTQ and cowanin compounds at a dose of 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  were not toxic to Raw 264.7 cells, the isolate

compound suppressed the secretion of IL-6 and TNF- $\alpha$ , inhibited phagocytic activity and reduced the activity of p-NF- $\kappa$ B and p- IKB- $\alpha$ .

From the results of in vivo testing of the TPTQ compound, it was found that TPTQ at a dose of 25 mg/kg BW had anti-inflammatory activity because it could suppress the concentration of NK cells, CD8+, and IL-6 in the blood serum of mice. From the entire series of research carried out, it can be concluded that the West Sumatran medicinal plant that has the potential to be developed as an immunomodulatory agent in treating COVID-19 is *Garcinia cowa* Roxb. and compounds in West Sumatran medicinal plants that have the potential to be developed as immunomodulatory agents in treating Covid 19 are TPTQ and cowanin.

**Keywords: bioassay guided fractionation, immunomodulator, anti-inflammatory, *Garcinia cowa* Roxb., ELISA, western blot**

