

Aktivitas Hemaglutinasi dan Identifikasi Ekstrak Berbasis *Green Solvent* dari Akar Tapak Dara (*Vinca rosea*) dan Daun Kadamba (*Mitragyna speciosa* Korth. Havil) Menggunakan FTIR-Kemometrik

Hemagglutination Activity and Authentication of Extracts-Based Green Solvent from *Vinca rosea* and *Mitragyna speciosa* using FTIR - Chemometrics

Risna Agustina¹, Iswahyudi², Erwin Samsul², Noor Linda Febrianie², Wisnu Cahyo Prabowo¹, M. Arifuddin², Hadi Kuncoro², Angga Cipta Narsa¹, Azminah³, Gemini Alam⁴, Abdul Mun'im⁵, Islamudin Ahmad^{1,2,*}

¹Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy,

Universitas Mulawarman, Samarinda, 75119 East Kalimantan, Indonesia

²Pharmaceutical Research and Development Laboratory of FARMAKA TROPIS,

Faculty of Pharmacy, Universitas Mulawarman, Samarinda, 75119 East Kalimantan, Indonesia

³Faculty of Pharmacy, University of Surabaya, Surabaya, 60293 East Java, Indonesia

⁴Faculty of Pharmacy, Hasanuddin University, Makassar, 90245 South Sulawesi, Indonesia

⁵Laboratory of Pharmacognosy-Phytochemistry, Faculty of Pharmacy,

Universitas Indonesia, Depok, 16424 West Java, Indonesia

*Email Korespondensi: islamudinahmad@farmasi.unmul.ac.id

Abstrak

Upaya proteksi terhadap infeksi pada kondisi pandemik virus salah satunya adalah dengan cara meningkatkan imunitas tubuh. Upaya tersebut dapat dilakukan dengan memanfaatkan tanaman obat yang diolah dengan baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas hemaglutinasi dan karakteristik ekstrak dari akar Tapak Dara (*Vinca rosea*) dan daun Kadamba (*Mitragyna speciosa* Korth. Havil) berbasis *Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES), atau yang dikenal dengan istilah *green solvent*. Pengujian dari ekstrak tersebut dilakukan untuk melihat pengaruh aktivitas terhadap kinerja pada sistem imun dalam melawan antigen yang masuk ke dalam tubuh. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode ekstraksi non-konvensional yaitu *NADES* berbasis *Microwave-Assisted Extraction* (NADES-MAE) dengan kondisi ekstraksi yang sesuai. Uji aktivitas hemaglutinasi dilakukan terhadap hewan coba mencit yang telah diinduksi Sel Darah Merah Kambing (SDMK) 1% dengan mengukur jumlah titernya. Karakterisasi ekstrak dilakukan menggunakan analisis ATR-FTIR dan kemometrik. Hasil penelitian diperoleh bahwa ekstrak Tapak Dara berbasis NADES memiliki aktivitas hemaglutinasi, sehingga berpotensi meningkatkan sistem imun tubuh. Ekstrak NADES tersebut dapat digunakan sebagai kandidat obat berbasis bahan alam sebagai preventif ataupun supportif dari

inveksi virus SARS-CoV2 dan mengurangi gejala setelah terinfeksi. Selain itu, hasil identifikasi ekstrak berbasis NADES menggunakan ATR-FTIR dan kemometrik menunjukkan spesifisitas masing-masing ekstrak yang dihasilkan berdasarkan berbagai komposisi NADES yang digunakan pada kedua tanaman tersebut.

Kata Kunci: Tapak dara (*Vinca rosea*), Kadamba (*Mitragyna speciosa* Korth. Havil), hemaglutinasi, green solvent, ATR-FTIR, kemometrik

Abstract

Protection against infections such as the pandemic virus can be generated by increasing the body's immunity. Medicinal plants that are processed and used correctly can increase immunity. This study aims to determine the hemagglutination activity and characteristics of extracts based on natural deep eutectic solvents (NADES), also known as green solvents, from tapak dara roots (*Vinca rosea*) and kadamba leaves (*Mitragyna speciosa* Korth. Havil) to see the activity of these extracts in influencing the immune system's work against antigens that enter the body. The extraction process was carried out using the non-conventional extraction method NADES based microwave-assisted extraction (NADES-MAE) with suitable extraction conditions. A hemagglutination test was carried out on mice induced by 1% goat red blood cells (SDMK), which was measured based on the number of titers. Extract characterization was performed using ATR-FTIR and chemometric analysis. Based on the study results, it was shown that the extract of tapak dara extract based on NADES has hemagglutination activity, so it has the potential to increase the body's immune system. The NADES extract can be used as a natural ingredient-based drug candidate as a preventive or supportive agent against SARS-CoV2 virus infection and reduces symptoms after infection. In addition, the identification of NADES-based extracts using ATR-FTIR and chemometrics showed the specificity of each extract produced based on the various compositions of NADES used in the two plants.

Keywords: Tapak dara (*Vinca rosea*), Kadamba (*Mitragyna speciosa* Korth. Havil), hemagglutination, green solvent, ATR-FTIR, chemometrics

Submitted: 11 January 2022

Revision: 07 July 2022

Accepted: 31 October 2022

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v4i5.1086>

1 Pendahuluan

Indonesia sebagai negara tropis yang kaya akan kekayaan alam, membuka peluang besar bagi para peneliti untuk menemukan kandidat obat baru dari bahan alam yang mampu membantu mengurangi ataupun menghilangkan gejala yang ditimbulkan dari infeksi virus SARS-CoV2 ataupun suplemen yang dapat membantu meningkatkan sistem imun tubuh, sehingga dapat terhindar dari

inveksi virus SARS-CoV2 pada masa pandemik saat ini [1], [2].

Tapak dara merupakan salah satu bahan alam yang telah banyak dilaporkan melalui hasil penelitiannya memiliki aktivitas dalam dunia kesehatan, seperti sebagai penenang, anti inflamasi, anti kanker, menurunkan tekanan darah dan menghilangkan panas dan racun. Kadamba adalah tumbuhan herbal berasal dari Indonesia yaitu bumi borneo, tumbuhan ini secara empiris digunakan masyarakat untuk

menghilangkan rasa lelah, mengatasi diare, inflamasi, dan meningkatkan daya tahan tubuh. Secara farmakologi pada bagian daunnya dilaporkan tanaman ini memiliki aktivitas sebagai anti oksidan yang sangat tinggi. Dalam situasi pandemi covid-19 saat ini obat herbal yang memiliki aktivitas dalam menekan gejala yang ditimbulkan saat terinfeksi virus SARS-CoV 2 dan sekaligus dapat meningkatkan sistem imun didalam tubuh sangat diperlukan.

Permulaan dari proses penelitian yang menggunakan bahan alam sebagai pencarian kandidat obat adalah ekstraksi, dalam prosesnya untuk melakukan ekstraksi metabolit sekunder dari tanaman dapat dilakukan menggunakan metode ekstraksi konvensional ataupun non-konvensional [3]. Sementara itu, faktor-faktor yang paling mempengaruhi dalam proses tersebut adalah salah satunya pemilihan pelarut. Pelarut yang paling umum digunakan adalah pelarut organik seperti etanol, etil asetat, heksana, aseton, metanol, kloroform dan petroleum eter. Pelarut tersebut jika digunakan akan memiliki dampak buruk bagi peneliti dan lingkungan karena bersifat toksik, mudah terbakar dan menguap. Karena hal inilah dilakukan pengembangan pelarut dengan pendekatan *green chemistry* [4]. NADES yang merupakan kepanjangan dari *Natural deep eutectic solvents* adalah pelarut yang potensial dapat digunakan sebagai pengganti pelarut konvensional, karena lebih ramah lingkungan, aman bagi peneliti dan memiliki harga yang lebih murah dibanding pelarut konvensional [5].

NADES terdiri dari campuran molekul yang bersifat *hydrogen bonding acceptor* (HBA) yang membentuk ikatan hidrogen antar molekul dengan satu atau lebih *hydrogen bonding donor* (HBD) sehingga titik leleh campuran menjadi lebih rendah untuk suhunya dari pada masing-masing komponen [6,7]. Penggunaan NADES sebagai pelarut dalam proses ekstraksi menunjukkan hasil yang lebih optimal dibandingkan dengan yang konvensional, hal ini dibuktikan dari laporan hasil penelitian diantaranya ekstraksi xanton dari manggis dan ekstraksi kafein dan polifenol dari biji kopi. Hemaglutinasi adalah terjadinya aglutinasi sel darah merah oleh berbagai komponen mikroorganisme seperti protein bakteri atau virus, hemaglutinasi mempunyai aktivitas

dalam perlekatan reseptor. Uji hemaglutinasi digunakan sebagai identifikasi adhesi pada beberapa protein bakteri, pengujian ini dapat digunakan untuk melihat aktivitas suatu ekstrak terhadap sistem imun.

Didasari oleh hal tersebut maka dilakukan penelitian pengujian aktivitas Hemaglutinasi dan identifikasi ekstrak berbasis green solvent dari akar tapak dara (*Vinca rosea*) dan daun Kadamba (*Mitragyna speciosa* Korth. Havil) menggunakan FTIR-Kemometri. Dengan tujuan untuk melihat aktivitas ekstrak dalam mempengaruhi kerja sistem imun dalam melawan antigen yang masuk.

2 Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Peralatan yang diperlukan pada penelitian ini meliputi microwave Modena® 900Watt (USA) yang telah dimodifikasi, timbangan analitik (Vibra HT, Tokyo), FTIR (Agilent Cary 630, USA), *food dehydrator* (Indonesia), micro 96 well (Iwaki pyrex®, Jepang), Spoit, pH meter, dan software minitab®18. Bahan yang digunakan meliputi kolin klorida, sorbitol, aquadest, hewan coba mencit (*Mus musculus*), phospahet buffer seline, *echinacea*, akar Tapak dara (*Vinca rosea*), daun Kadamba (*Mitragyna speciosa* Korth. Havil), dan sel darah merah kambing (SDMK) 1%.

2.2 Proses Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode NADES-MAE berdasarkan penelitian sebelumnya [8,9,10,11]. Secara singkat, masing-masing sebanyak 10 gram serbuk kering akar tapak dara dan daun kadamba, dicampur dengan pelarut berbasis NADES (komposisi kolin klorida dan sorbitol dengan perbandingan 1:1 g/g dalam air 75% untuk akar tapak dara dan 25% untuk daun kadamba). Kemudian diekstaksi menggunakan microwave termodifikasi selama 15 menit dan kekuatan microwave 90 watt untuk akar tapak dara dan selama 25 menit, kekuatan microwave 270 watt untuk daun kadamba, rasio sampel dan pelarut sebesar 1:15 g/mL. larutan ekstrak dan residunya dipisahkan menggunakan corong Buchner. Selanjutnya larutan ekstrak diuapkan selama ± 24 jam menggunakan *food dehydrator*

pada suhu 50°C. Ekstrak kering berbasis NADES disimpan pada wadah yang tertutup rapat hingga siap untuk digunakan.

2.3 Uji Hemaglutinasi secara *in vivo*

Pengujian hemaglutinasi menggunakan hewan mencit telah mendapatkan izin etik dari komisi etik Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman (No. 72/KEPK-FFUNMUL/EC/EXE/08/2021). Mencit yang digunakan merupakan spesies *mus musculus* jantan dengan berat 20-25gram dengan adaptasi selama 1 minggu. Kelompok pengujian dibagi menjadi 3, diantaranya: kelompok uji (Ekstrak NADES Kadamba dan Tapak Dara), kelompok kontrol sakit/blangko (diimunisasi dengan SDM 1% dengan Phospat Buffer Saline pH 7,4) dan kelompok kontrol positif *echinacea* 30mg/kgBB. Ekstrak NADES (kolin klorida:sorbitol) dari sampel akar tapak dara dan daun kadamba mengandung ajmalicine disuspensikan dengan aquades dengan konsentrasi masing-masing 100 dan 200mg/kgBB. Replikasi seluruh perlakuan sebanyak 3 kali dengan total hewan yang digunakan sebanyak 96 ekor. Sebelum pemberian perlakuan, seluruh mencit diberikan imunisasi dengan SDM 1% setiap hari selama 7 secara intraperitoneal sebanyak 0,1 mL. Larutan uji ekstrak NADES, blanko, dan kontrol dioralkan ke mencit selama 7 hari. Pada hari ketujuh di ambil darah melalui vena ekor dan uji uji hemaglutinasi SDM 1%. Sel darah merah diujikan secara *in vitro* menggunakan micro 96 well Iwaki pyrex ® sebanyak 25 µl dengan 8 seri pengenceran (4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 dan 512) dengan 25 µl SDM 1%. Pengamatan hemaglutinasi pada tiap sumur uji dengan mengamati pembentukan endapan yang diperoleh dari reaksi ikatan antara antibodi dengan antigen (eritrosit). Aktifitas ekstrak dapat dipantau dari konsentrasi ekstrak dengan pengenceran terendah yang mampu menghambat terjadinya aglutinasi.

2.4 Identifikasi Ekstrak menggunakan ATR-FTIR dan Kemometrik

Sebanyak 5 mg sampel yang akan dianalisis ditempatkan pada pelat kristal ATR, kemudian dilakukan pengukuran. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali untuk mengetahui

akurasi nilai absorbansi. Data yang diperoleh spektrum ATR-FTIR diolah menggunakan software minitab®18 Kemudian dianalisis menggunakan Teknik kemometrik mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh da Silva, et.al (2018) [12], Bunaciu, et.al., (2021) [13], dan Keshavarzi, et.al., (2019) [14] menggunakan Principal Component Analysis (PCA) dan Agglomerative Hierarchical Clustering (AHC) untuk mengeksplorasi sampel dalam suatu kelompok (cluster) relative terhadap ketidakmiripannya, melalui metode *Euclidean Distance* dan *Single Linkage* sebagai ukuran jarak.

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Aktivitas Hemaglutinasi Ekstrak berbasis NADES dari Akar Tapak Dara dan Daun Kadamba

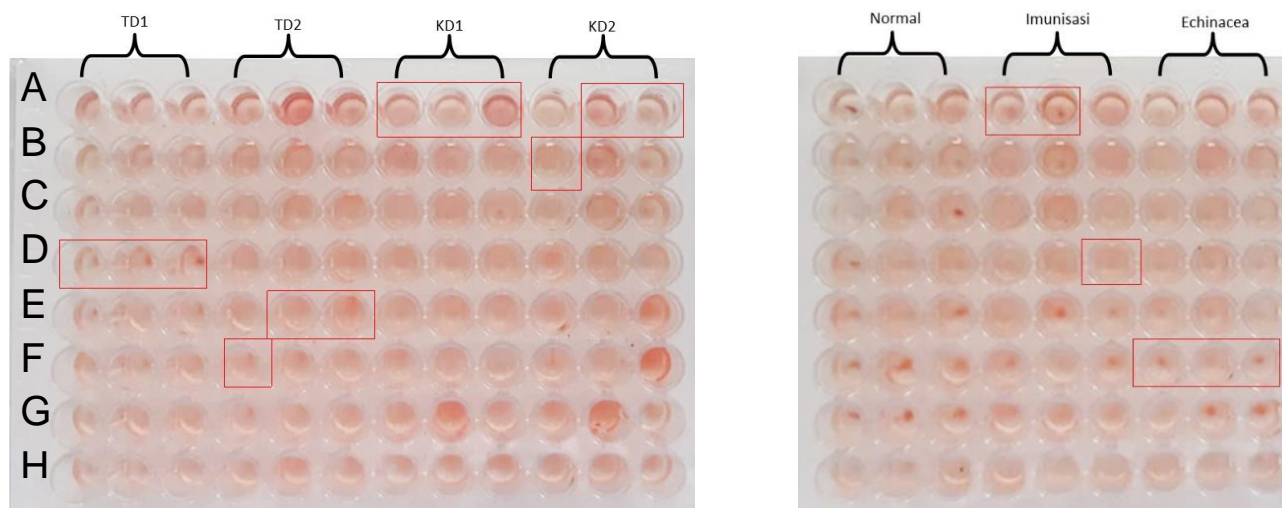
Immunomodulator adalah substansi atau bahan yang dapat mengubah/ memodifikasi sistem imun. Secara umum, immunomodulator dikategorikan sebagai immunosupresan dan immunostimulan berdasarkan efek yang ditimbulkan. Immunostimulan merupakan agen atau bahan yang dapat merangsang atau meningkatkan sistem imun, sementara immunosupresan adalah agen yang dapat menekan respons imun. Uji Hemaglutinasi Inhibitor (HI) dilakukan sejak tahun 1940-an pada virus influenza A. Tujuannya untuk mendeteksi reaktivitas antigenik antara isolat influenza. Metode kuantifikasi antibodi HI ini adalah metode yang cepat dan murah. Hanya menggunakan sumber sel eritrosit, peralatan laboratorium sederhana, dan hasilnya hanya beberapa jam. Pada laboratorium serologi, metode HI pada awalnya digunakan untuk identifikasi sub tipe darah dan telah digantikan dengan teknologi pengurutan gen yang lebih canggih [15].

Prinsip pengujian ini adalah antibodi diinkubasi untuk mengikat virus dan akan mengagalkan ikatan terhadap eritrosit yang ditambahkan ke dalam campuran [16]. Studi klinik yang pernah dilakukan menunjukkan keunggulan metode ini, khususnya pada penerapan secara universal diseluruh belahan dunia. Ketidak cocokan penggunaan vaksin influenza H7 dikarenakan perbedaan ras serta terjadi mutasi yang cepat pada virus dapat

dengan mudah dan cepat diperoleh dengan uji HI [17].

Sebelum dilakukan pengujian, dilakukan proses ekstraksi terhadap Tapakdara dan daun Kadamba dengan *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) menggunakan pelarut *Natural Deep*

Eutectic Solvent (NADES). Metode ekstraksi ini dipilih dengan tujuan untuk meningkatkan kandungan ajmalisin yang merupakan zat aktif berpotensi antivirus SARS-CoV-2 secara *in silico*.



Gambar 1. Nilai Titer uji hemaglutinasi ekstrak NADES Tapak dara dan Kadamba. Pada micro 96 well. TD1= Tapak Dara 100mg/KgBB; TD2= Tapak Dara 200mg/KgBB; KD1= Kadamba 100mg/Kg; KD2= Kadamba 200mg/Kg. A=1/4, B=1/8, C=1/16, D=1/32, E=1/64, F=1/128, G=1/256, H=1/512

Ekstrak NADES akar Tapakdara dan daun Kadamba yang telah dioptimalkan kandungan ajmalisin diujikan dengan metode Hemaglutinasi Inhibitor (HI). Hasil yang cukup baik terutama ditunjukkan pada ekstrak Tapakdara dengan dosis 200mg/kgBB mencit dibandingkan kontrol sakit dengan pemberian imunisasi SDMk 1% (Sel Darah Merah Kambing). Hasil ini dapat dilihat pada Gambar 1.

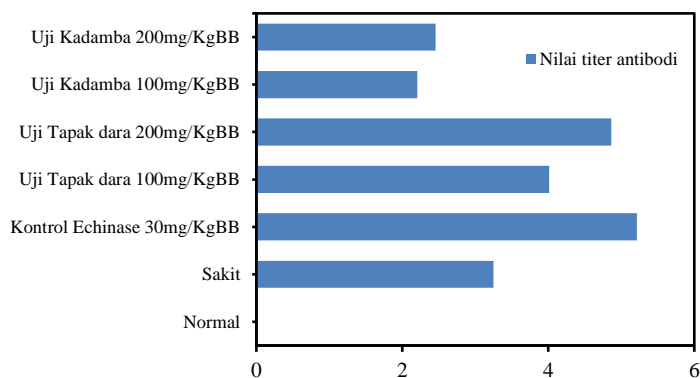
Dari hasil aglutinasi, data dianalisis dan dicatat nilai pengenceran yang terjadi aglutinasi. Nilai pengenceran terjadinya aglutinasi dapat dilihat pada tabel 1.

Angka titer pada tabel 1. yang memiliki konsentrasi yang rendah akan memiliki nilai $[2(\text{Log}(\text{titer})+1)]$ yang tinggi. Nilai $[2(\text{Log}(\text{titer})+1)]$ yang tinggi menunjukkan bahwa kelompok perlakuan tersebut sangat aktif berperan sebagai antibodi terhadap SDMk. Dalam pegujian ini nilai antibodi di atas secara keseluruhan menunjukkan seluruh ekstrak memiliki nilai angka titer yang lebih rendah bila dibandingkan dengan kontrol namun lebih tinggi dibandingkan dengan Kontrol Negatif. Rendahnya angka titer bila dibandingkan dengan kontrol normal berkorelasi dengan jumlah antibodi yang lebih sedikit. Kemudian semakin meningkat dosis pada ekstrak tapak dara maupun kadamba menghasilkan nilai angka titer semakin rendah. Semakin tinggi angka titer maka semakin meningkat respon imun spesifik humoral pada mencit, begitu juga sebaliknya. Pada penelitian sebelumnya, ekstrak NADES-MAE tapak dara memiliki kandungan ajmalisin yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak Kadamba, hal

Tabel 1. Hasil pengujian Titer Antibodi

Kelompok Perlakuan	Titer Antibodi pada replikasi			[2(Log (titer)+1)]
	1	2	3	
Normal	1:0	1:0	1:0	0,00
Kontrol Negatif	1:4	1:4	1:32	3,25
Kontrol Positif (Echinace 30mg/kgBB)	1:128	1:128	1:128	5,21
Ekstrak Tapak Dara 100 mg/kgBB	1:32	1:32	1:32	4,01
Ekstrak Tapak Dara 200 mg/kgBB	1:128	1:64	1:64	4,86
Ekstrak kadamba 100 mg/kgBB	1:4	1:4	1:4	2,20
Ekstrak kadamba 200 mg/kgBB	1:8	1:8	1:8	2,45

tersebut juga ditunjukkan dari titer kelompok uji hemaglutinasi tersebut, seperti yang disajikan pada Gambar 2.



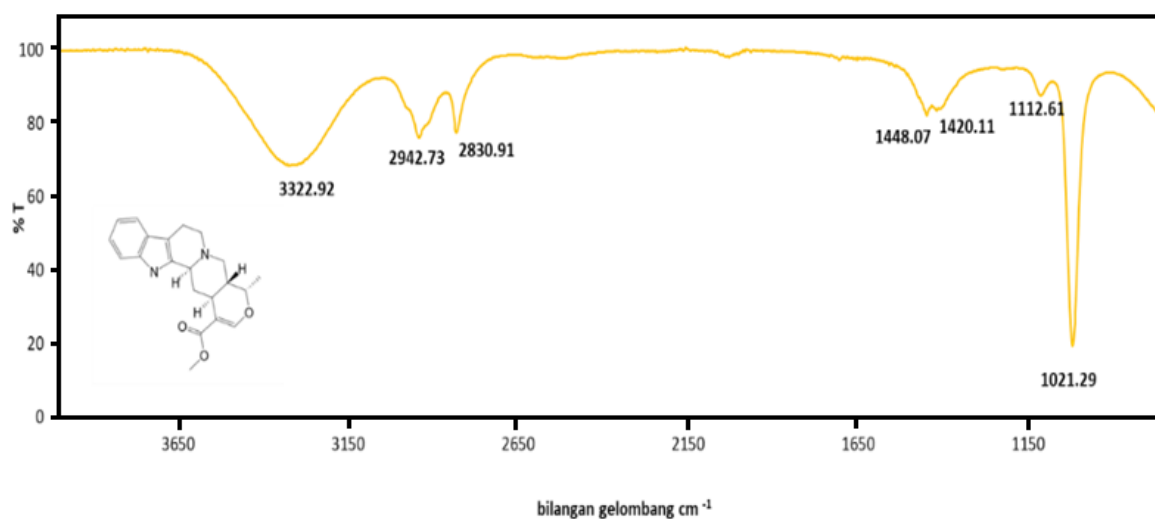
Gambar 2. Grafik uji hemaglutinasi ekstrak NADES Tapak dara dan Kadamba

Beberapa penelitian menggunakan uji HI pada pengukuran titer antibodi ekstrak dari tanaman sudah banyak ditemukan. Pada silymarin 50 mg/kg menunjukkan peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif [18]. *Andrographis paniculata*, *Zingiber officinale* Rose, *Houttuynia cordata*, *Glycyrrhiza auraleensis* Fisch diketahui mampu menghambat pertumbuhan virus H5N1 pada uji HI eritrosit [19].

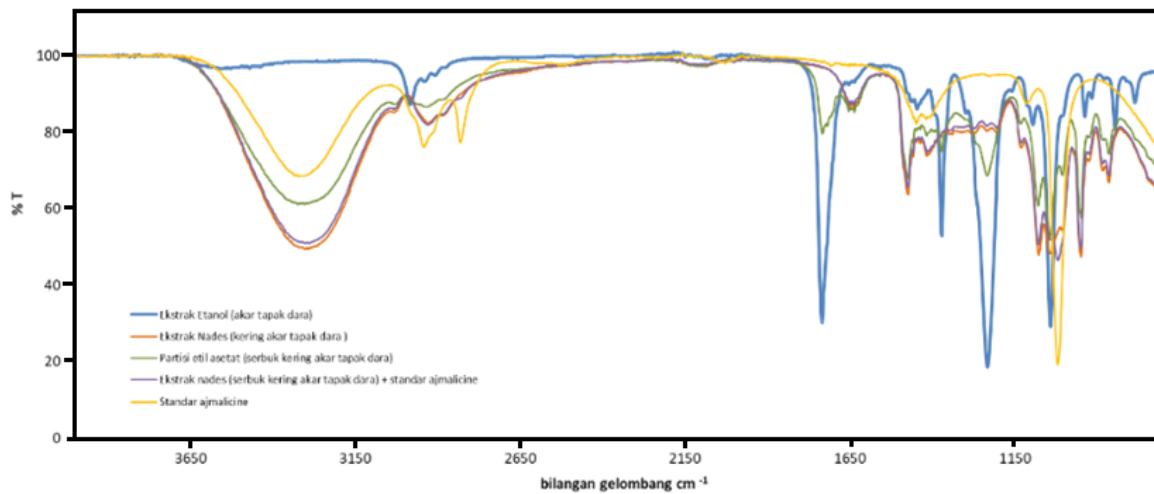
Aktivitas penghambatan aglutinasi yang dihasilkan pada kedua ekstrak ajmalisin ini dapat dikaitkan dengan potensi dalam meningkatkan antibodi pada mamalia yang terinfeksi SARS-CoV-2. Uji HI pada kelompok populasi atau pandemi SARS-CoV-2 telah digunakan juga untuk mencari bukti tingkat antibodi yang mampu melindungi terhadap penyakit ini. Aglutinasi oleh plasma dari donor yang pulih dari COVID-19 (donor konvalesen) secara kuantitatif dapat dijadikan parameter mendeteksi antibodi yang terbentuk [20].

3.2 Profil Ekstrak Hasil Identifikasi Menggunakan ATR-FTIR-Kemometrik

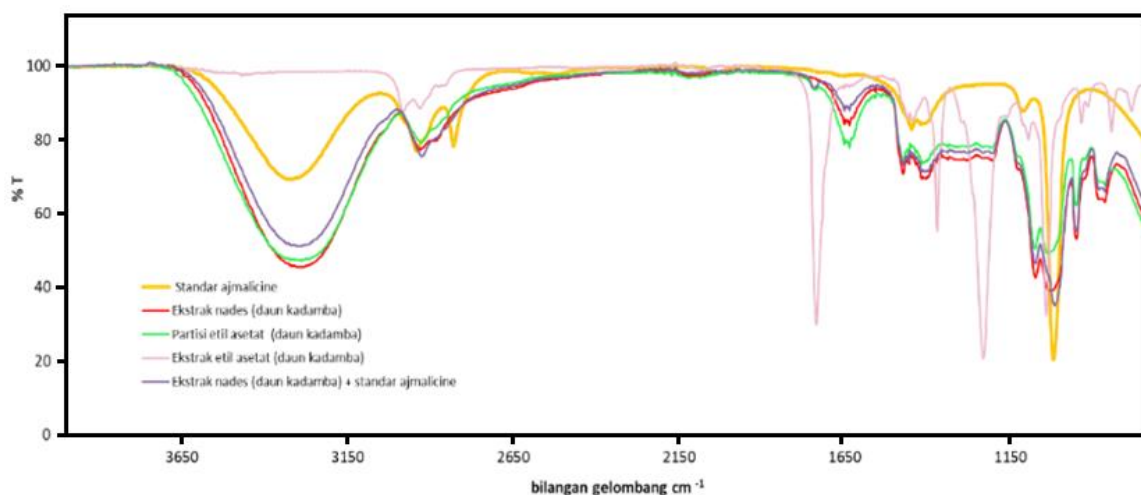
Spektrum FTIR dari standar ajmalicine dalam pelarut etanol, puncak yang teramati pada bilangan gelombang $3322,92\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi ulur dari O-H, puncak pada 2942 cm^{-1} dan $2830,91\text{ cm}^{-1}$ adanya vibrasi ulur C-H dari metil, puncak pada $1448,07$ dan $1420,11$ vibrasi tekuk C-H dari metil dan metilen, puncak pada $1112,61\text{ cm}^{-1}$ dan $1021,29\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi ulur C-O (Gambar 3). Spektrum overlay FTIR dari sampel uji akar tapak dara menunjukkan perbedaan dengan standar ajmalicine pada bilangan gelombang $3322,92\text{ cm}^{-1}$ terdapat puncak, sedangkan dari ekstrak etanol tidak menunjukkan puncak, Gambar 4.



Gambar 3. Spektrum standar ajmalicine



Gambar 4. Spektrum hasil pengujian FTIR dari sampel uji akar tapak dara dan standar ajmalicine.



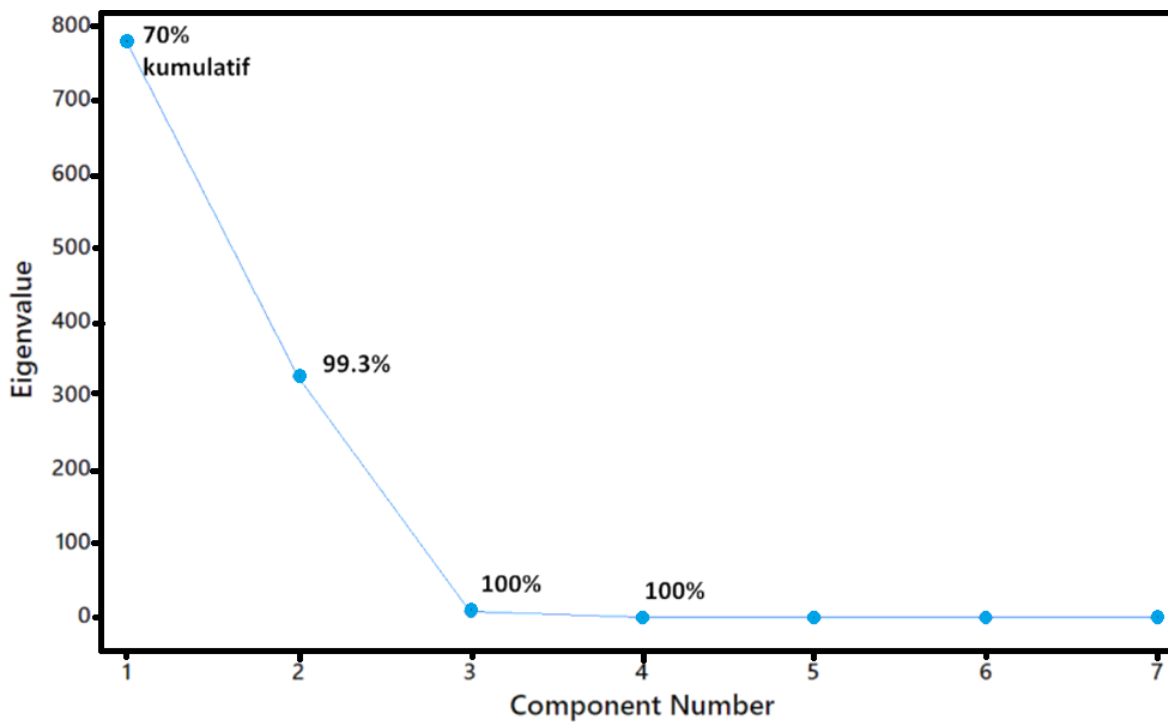
Gambar 5. Spektrum hasil pengujian FTIR dari standar ajmalicine dan sampel uji daun kadamba dan standar ajmalicine.

Spektrum overlay FTIR dari sampel uji akar tapak dara menunjukkan perbedaan dengan standar ajmalicine pada bilangan gelombang 3322,92 cm⁻¹ terdapat puncak, sedangkan dari ekstrak etil asetat dari daun kadamba tidak menunjukkan puncak, Gambar 5.

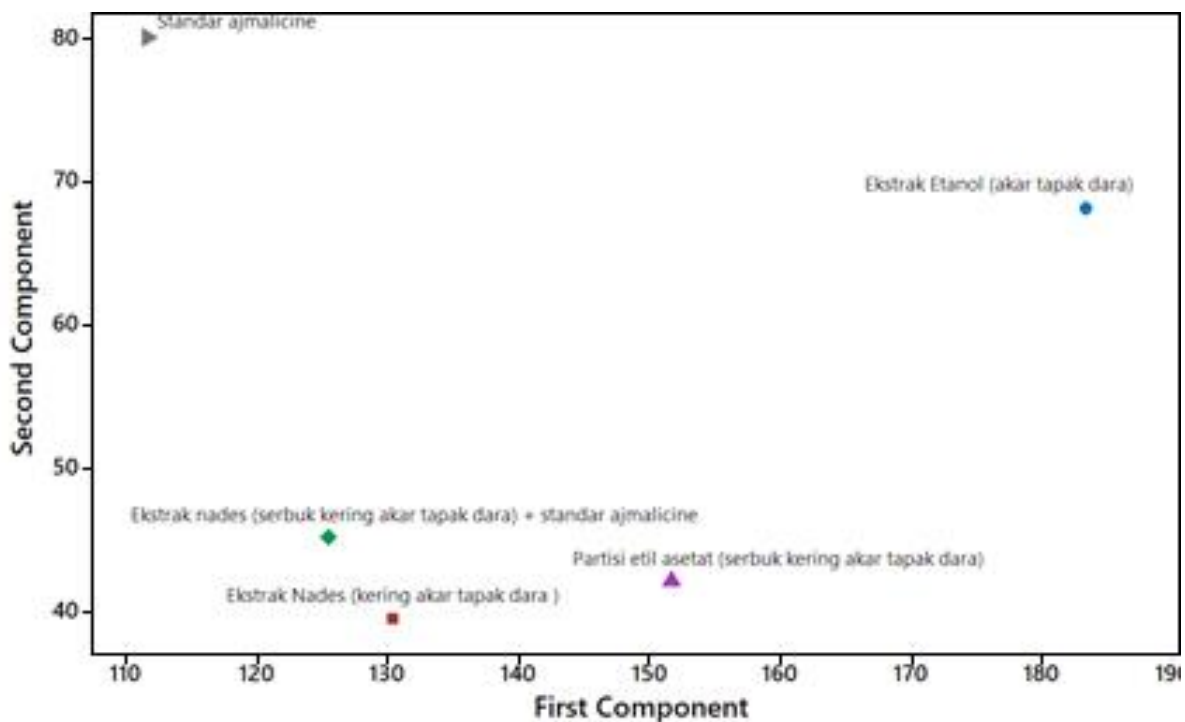
Tahapan selanjutnya untuk membedakan atau mengelompokkan data spektrum FTIR standar ajmalicine dan sampel uji akar tapak dara dan daun kadamba data diolah dengan kemometrik (PCA dan CA). Data spektrum yang diolah menggunakan program minitab dengan metode PCA, dipilih 7 bilangan gelombang yaitu 3322,92; 2942,73; 2830,91; 1448,07; 1420,11;

1112,61 dan 1021,29 cm⁻¹, yang merupakan puncak-puncak utama spektrum FTIR dari standar ajmalicin.

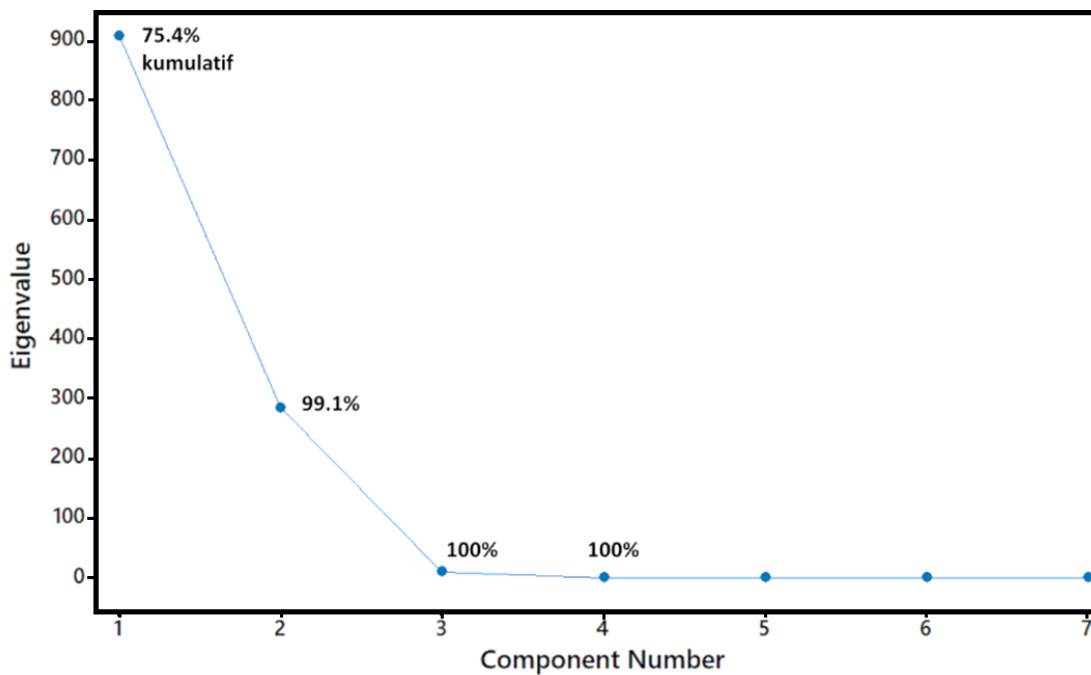
Hasil pengelompokan dengan metode PCA dapat dilihat pada Gambar 6 menunjukkan hubungan 7 komponen utama (PC) dengan *eigenvalue* dari akar tapak dara dan standar ajmalicine. PC1 mempunyai nilai kumulatif 70% dari varian total dan PC2 mempunyai nilai kumulatif 99,3% dari varian total. Hasil ini menunjukkan metode PCA dapat mengurangi data 7 variabel menjadi 2 variabel baru, karena sudah mampu mengekstrak 99,3%.



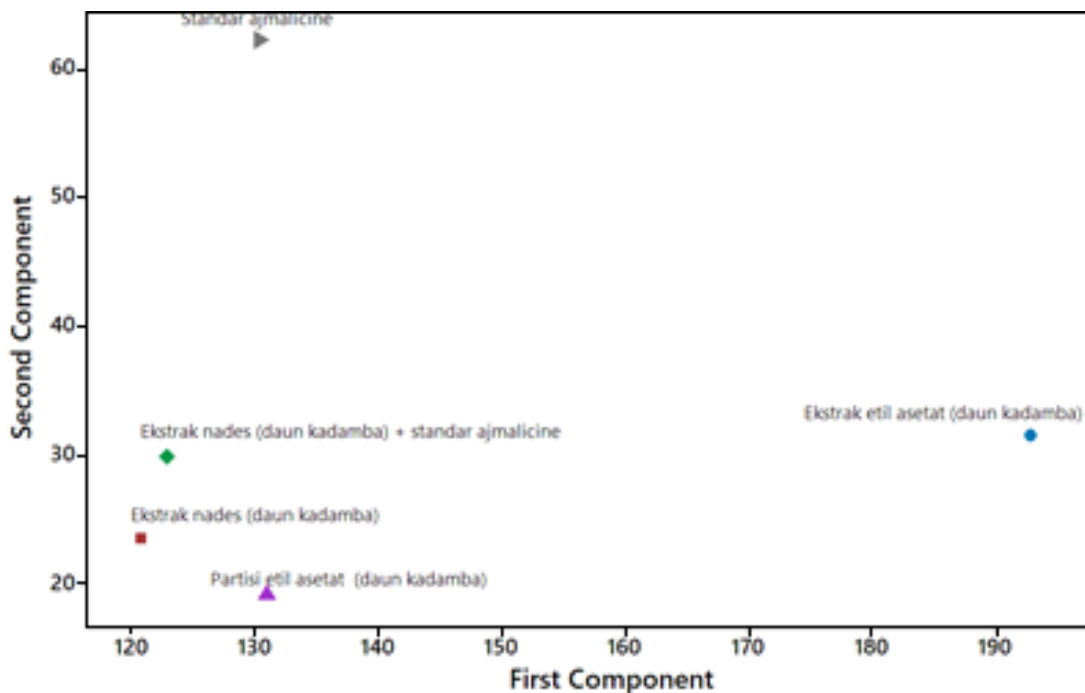
Gambar 6. Hubungan antara PC (7 komponen utama) dan *eigenvalue* dari akar tapak dara dan standar ajmalicine.



Gambar 7. Korelasi skor plot PC1 dan PC2 dari Sampel uji ekstrak akar tapak dara dan standar ajmalicine



Gambar 8. Hubungan antara PC (7 komponen utama) dan *eigenvalue* dari daun kadamba dan standar ajmalicine.



Gambar 9. Korelasi skor plot PC1 dan PC2 dari Sampel uji ekstrak daun kadamba dan standar ajmalicine

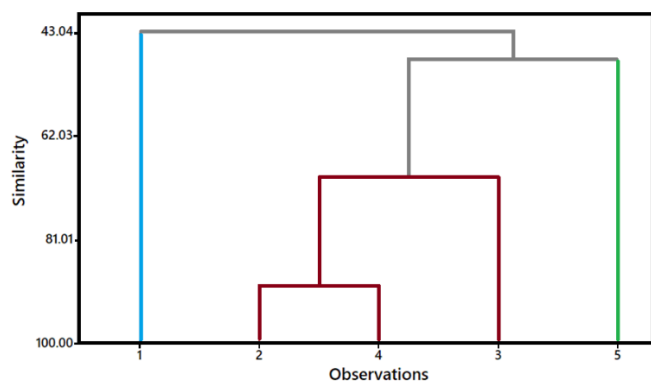
Pada Gambar 7 Korelasi skor plot PC1 dan PC2 dari Sampel uji ekstrak serbuk akar tapak dara dengan nades yang ditambahkan dengan standar ajmalicine menunjukkan jarak yang dekat dengan ekstraksi menggunakan nades

dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan partisi etil asetat dan ekstrak etanol.

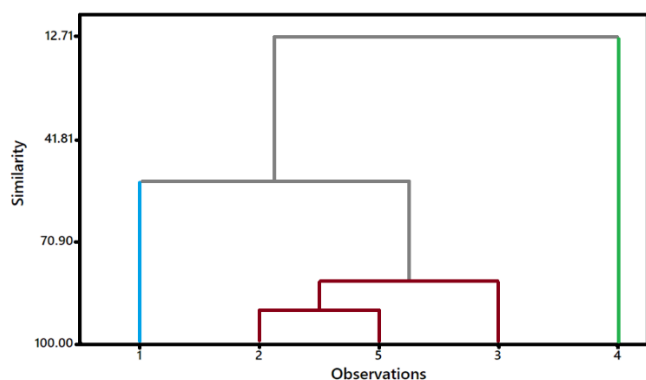
Hasil pengelompokan dengan metode PCA dapat dilihat pada Gambar 8 menunjukkan hubungan 7 komponen utama (PC) dengan *eigenvalue* dari daun kadamba dan standar

ajmalicine. PC1 mempunyai nilai kumulatif 75,4% dari varian total dan PC2 mempunyai nilai kumulatif 99,1% dari varian total. Hasil ini menunjukkan metode PCA dapat mengurangi data 7 variabel menjadi 2 variabel baru, karena sudah mampu mengekstrak 99,1%.

Pada Gambar 9 Korelasi skor plot PC1 dan PC2 dari Sampel uji ekstrak daun kadamba dengan nades yang ditambahkan dengan standar ajmalicine menunjukkan jarak yang dekat dengan ekstraksi menggunakan nades dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan partisi etil asetat dan ekstrak etil asetat.



Gambar 10. Dendrogram analisis kluster dari 1. Ekstrak etanol (akar tapak dara); 2. Ekstrak Nades (kering akar tapak dara); 3. Partisi etil asetat (serbuk kering akar tapak dara); 4. Ekstrak nades (serbuk kering akar tapak dara) + standar ajmalicine; 5. Standar ajmalicine



Gambar 11. Dendrogram analisis kluster dari 1. Standar ajmalicine; 2. Ekstrak nades (daun kadamba); 3. Partisi etil asetat (daun kadamba); 4. Ekstrak etil asetat (daun kadamba); 5. Ekstrak nades (daun kadamba) + standar ajmalicine

Pada Gambar 10 menunjukkan dendrogram analisis kluster ada 3 kelompok atau kluster. Hasil pengelompokan ekstrak nades (kering akar tapak dara) dan ekstrak nades (serbuk

kering akar tapak dara) + standar ajmalicine menunjukkan kemiripan 89,46%, dengan partisi etil asetat (serbuk kering akar tapak dara) menunjukkan kemiripan 69,38%. Ekstrak nades dari serbuk kering akar tapak dara menunjukkan kemiripan hanya 43,04%. Hasil pengelompokan dengan metode kluster analisis ini menunjukkan ekstraksi dengan nades lebih baik dibandingkan dengan ekstraksi etanol.

Pada Gambar 11 menunjukkan dendrogram analisis kluster ada 3 kelompok atau kluster, Hasil pengelompokan dari ekstrak nades (daun kadamba) dan ekstrak nades (daun kadamba) + standar ajmalicine menunjukkan kemiripan 90,3%, dengan ekstraksi partisi etil asetat (daun kadamba) menunjukkan kemiripan 82,3%. Ekstrak standar ajmalicine dalam etanol dan ekstrak nades dari daun kadamba menunjukkan kemiripan 53,8% sedangkan dengan ekstrak etil asetat (daun kadamba) menunjukkan kemiripan hanya 12,7%. Hasil pengelompokan dengan metode analisis kluster menunjukkan ekstraksi dengan nades daun kadamba lebih baik dibandingkan dengan ekstraksi etil asetat.

4 Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Ekstrak Tapak Dara memiliki aktivitas Hemaglutinasi sehingga berpotensi meningkatkan sistem imun tubuh, dan dapat digunakan sebagai kandidat obat berbasis bahan alam sebagai preventif ataupun supportif dari invensi virus SARS-CoV2 serta mengurangi gejala setelah terinfeksi pada masa pandemi saat ini. Selain itu, hasil identifikasi ekstrak berbasis NADES menggunakan ATR-FTIR dan kemometrik menunjukkan spesifisitas masing-masing ekstrak yang dihasilkan berdasarkan berbagai komposisi NADES yang digunakan pada kedua tanaman tersebut.

5 Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Direktur Laboratorium Riset dan Pengembangan Kefarmasian "FARMAKA TROPIS" Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman Samarinda atas fasilitas dan dukungan selama pelaksanaan riset ini. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada

Lembaga Pengelolaan Dana Pendidikan (LPDP) dan Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) karena telah membiayai penelitian ini, melalui hibah konsorsium dan inovasi riset COVID-19 dengan nomor 48/LPDP/2020.

6 Kontribusi Penulis

Pembagian tugas sudah dilakukan sesuai dengan prosinya antara penulis pertama dengan anggota penulis lainnya, baik dalam tahapan penelitian ataupun penulisan naskah jurnal. Risna Agustina: Manuscript reader, Sampel analysis and Data analysis. Iswahyudi: Laboratorium assistance, Erwin Samsul: Data Analisis, Noor Linda Febriane: Laboratorium assistance, Wisnu Cahyo Prabowo: manuscript reader, Muhammad Arifuddin: Extractor, Hadi Kuncoro: Sampel preparation, Angga Cipta Narsa: Sampel analysis, Azminah: Data Analysis, Gemini Alam: Supervision, Abdul Mun'im: Supervision, Islamudin Ahmad: Supervision.

7 Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam artikel ini.

8 Daftar Pustaka

- [1] Chan JFW, To KKW, Tse H, Jin DY, Yuen KY. Interspecies transmission and emergence of novel viruses: Lessons from bats and birds. *Trends Microbiol.* 2013;21(10):544-555. doi:10.1016/j.tim.2013.05.005
- [2] Chan JFW, Kok K, Zhu Z, Chu H, Kai-Wang K, Yuan S, Yuan KY. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9:221-236. doi:10.1080/22221751.2020.1719902
- [3] Ahmad I, Nur Y, Prabowo WC. *Laporan Kemajuan Penelitian Multi Tahun*. Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat. Kemenristek-Dikti. Jakarta; 2021.
- [4] Cvjetko Bubalo M, Vidović S, Radojčić Redovniković I, Jokić S. Green solvents for green technologies. *J Chem Technol Biotechnol.* 2015;90(9):1631-1639. doi:10.1002/jctb.4668
- [5] Ahmad I, Pertiwi AS, Kembaren YH, Rahman A, Mun'im A. Application of natural deep eutectic solvent-based ultrasonic assisted extraction of total polyphenolic and caffeine content from coffee beans (*Coffea Beans* L.) for instant food products. *J Appl Pharm Sci.* 2018;8(8):138-143. doi:10.7324/JAPS.2018.8819
- [6] Ahmad I, Yusniah A, Nur Y, Prabowo WC, Herman. Pengayaan polifenol total dari daun Kadamba menggunakan metode ekstraksi berbantu microwave berbasis pelarut hijau. *J Farm Galen.* 2020;6(2):338-346. doi:10.22487/j24428744.2020.v6.i2.15035
- [7] Ahmad I, Prabowo WC, Nur Y, Ardana M, Rahayu BP, Herman. Optimasi metode ekstraksi berbantu microwave dengan pelarut hijau (asam sitrat-glukosa) terhadap kadar polifenol total dari daun kadamba (*Mitragyna speciosa* Korth. Havil) menggunakan response surface methodology. *Maj Farm dan Farmakol.* 2020;24(1):11-16. doi:10.20956/mff.v24i1.9456
- [8] Datu KAT, Fitriani N, Ahmad I. Pengaruh Penggunaan Metode Lactic Acid-Sucrose dengan Microwave Assisted Extraction (MAE) terhadap Polifenol Total dari Herba Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth). *Proc. Mul. Pharm Conf.* 2019;10:114-117. doi:10.25026/mpc.v10i1.373
- [9] Hidayati R, Rahmawati D, Ahmad I. Ekstraksi Polifenol Total dari Daun Kadamba (*Mitragyna speciosa* Korth) Menggunakan Metode Choline Chloride-Sorbitol based Microwave Assisted Extraction. *Proc. Mul. Pharm Conf.* 2019;10:131-134. doi:10.25026/mpc.v10i1.377
- [10] Yusniah A, Nur Y, Ahmad I. Ekstraksi Polifenol Total dari Daun Kadamba (*Mitragyna Speciosa* Korth.) Menggunakan Malic Acid-Glucose Based Microwave Assisted Extraction. *Proc. Mul. Pharm Conf.* 2019;10:147-150. doi:10.25026/mpc.v10i1.381
- [11] Herman, Ibrahim A, Rahayu BP, et al. Single Factor Effect of Natural Deep Eutectic Solvent Citric Acid-Glucose Based Microwave-Assisted Extraction on Total Polyphenols Content from *Mitragyna speciosa* Korth. Havil Leaves. *Pharmacogn J.* 2021;13(5):1109-1115.
- [12] da Silva C, Prasniewski A, Calegari MA, de Lima VA, Oldoni TLC. Determination of Total Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Ethanolic Extracts of Propolis Using ATR - FT-IR Spectroscopy and Chemometrics. *Food Anal Methods.* 2018;11:2013-2021.
- [13] Bunaciu AA, Aboul-enein HY, Fleschin S. FTIR Spectrophotometric Methods Used for Antioxidant Activity Assay in Medicinal Plants. *Appl Spectrosc Rev.* 2012;47(4):245-255. doi:10.1080/05704928.2011.645260
- [14] Keshavarzi Z, Barzegari S, Faizi M, Zolghadri Y, Shirazi FH. Identification and Quantification of Texture Soy Protein in A Mixture with Beef Meat Using ATR-FTIR Spectroscopy in Combination

- with Chemometric Methods. *Iran J Pharm Res.* 2019;18:190-197.
doi:10.22037/ijpr.2019.111580.13242
- [15] Spackman E. *Animal Influenza Virus IN Series Editor.*; 2014.
- [16] Payne S. Methods to Study Viruses. *Viruses.* Published online 2017:37-52.
doi:10.1016/b978-0-12-803109-4.00004-0
- [17] Jang H, Ross TM. Hemagglutination Inhibition (HAI) antibody landscapes after vaccination with H7Nx virus like particles. *PLoS One.* 2021;16(3 March):1-18.
doi:10.1371/journal.pone.0246613
- [18] Karimi G, Hassanzadeh-Josan S, Memar B, Esmaili SA, Riahi-Zanjani B. Immunomodulatory effects of silymarin after subacute exposure to mice: A tiered approach immunotoxicity screening. *J Pharmacopuncture.* 2018;21(2):90-97.
doi:10.3831/KPI.2018.21.011
- [19] Le QH, Nguyen TQ, Duc HM, Tam T, Doan, Q, Huyen C, Chu T, Dao T, Thanh T, Ha, H. Study on Screening Vietnamese Herbs with Antiviral Activity to Create Products to Support Treatment of Some Diseases Caused By RNA-Virus. Published online 2018:1-5.
- [20] Townsend A, Rijal P, Xiao J, Tan TK, Huang KYA, Schimanski L, Huo J, Gupta N, Rahikainen R, Matthews PC, Crook D, Hoosdally S, Dunachie S, Barnes E, Street T, Conlon CP, Frater J, Arancibia-Carcamo, CV, Rudkin J, Stoesser N, Karpe F, Neville M, Ploeg R, Oliveira M, Roberts DJ, Lamikanra AA, Tsang HP, Bown A, Vipond R, Mentser AJ, Knight JC, Kwok AJ, Sreaton GR, Mongkolsapaya J, Dejnirattisai W, Supasa P, Klenerman P, Dold C, Baillie JK, Moore SC, Openshaw PJM, Semple MG, Turtle LCW, Ainsworth M, Allcock A, Beer S, Bibi S, Skelly D, Stafford L, Jeffrey K, O'Donnell D, Clutterbuck E, Espinosa A, Mendoza M, Georgiou D, Lockett T, Martinez J, Perez E, Sanches VG, Scozzafava G, Sobrinodiaz A, Thraves H, Joly E. A haemagglutination test for rapid detection of antibodies to SARS-CoV-2. *Nat Commun.* 2021;12(1):1-12. doi:10.1038/s41467-021-22045-y